

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-224992

(43)Date of publication of application : 15.08.2000

(51)Int.Cl.

C12N 15/09
C07K 16/40
C12N 1/15
C12N 1/19
C12N 1/21
C12N 5/10
C12N 9/16
C12N 15/02
C12P 21/08
C12Q 1/44
C12Q 1/68
G01N 33/15
G01N 33/50
G01N 33/573
//(C12N 9/16
C12R 1:91)

(21)Application number : 11-129343

(71)Applicant : TANABE SEIYAKU CO LTD

(22)Date of filing : 11.05.1999

(72)Inventor : OMORI KENJI

KODERA ATSUSHI
FUJISHIGE KOTOMI
MICHIIHASHI HIDEO
YUASA KEIZO

(30)Priority

Priority number : 10338861 Priority date : 30.11.1998 Priority country : JP

(54) NEW PHOSPHODIESTERASE AND GENE CODING FOR THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new 'type-10' phosphodiesterase which has a specific amino acid sequence, has a cyclic nucleotide-hydrolyzing activity, and is useful for the study on the mechanism of intracellular propagation of information, the development of a new medicine by the screening of an inhibitor, and

284
 CCG AGG ATG GGA GCG AGG AAG TCG GAG CAG 10 AAG GAG ATG AGC TGG
 CCG ATT ATG GAG GAG GAG TGG AGG GAG AGC AGC TAC CAG TGG TGG TGG TGG
 3
 6 12
 CCG AAG GCG TGG GAG TAC CCG CCG CAG ACC GAG TGA TGA CAG TGA 341
 TGG GAG TGG TGG AAG TGG AGG AGG GAG GAG GAG GAG GAG GAG GAG GAG
 18 24 30
 351
 GCG AAG CAG ATC GCG GCG GAG GAG ATC GAG ATC GAG TGG ATT TGG GAG
 GAG TGG TGG TGG TGG TGG TGG TGG TGG TGG TGG TGG TGG TGG TGG TGG
 42 48 54 60 66 72 78 84 90 96 102 108 114 120 126 132 138 144 150 156 162 168 174 180 186 192 198 204 210 216 222 228 234 240 246 252 258 264 270 276 282 288 294 300 306 312 318 324 330 336 342 348 354 360 366 372 378 384 390 396 402 408 414 420 426 432 438 444 450 456 462 468 474 480 486 492 498 504 510 516 522 528 534 540 546 552 558 564 570 576 582 588 594 600 606 612 618 624 630 636 642 648 654 660 666 672 678 684 690 696 702 708 714 720 726 732 738 744 750 756 762 768 774 780 786 792 798 804 810 816 822 828 834 840 846 852 858 864 870 876 882 888 894 900 906 912 918 924 930 936 942 948 954 960 966 972 978 984 990 996 1002 1008 1014 1020 1026 1032 1038 1044 1050 1056 1062 1068 1074 1080 1086 1092 1098 1104 1110 1116 1122 1128 1134 1140 1146 1152 1158 1164 1170 1176 1182 1188 1194 1200 1206 1212 1218 1224 1230 1236 1242 1248 1254 1260 1266 1272 1278 1284 1290 1296 1302 1308 1314 1320 1326 1332 1338 1344 1350 1356 1362 1368 1374 1380 1386 1392 1398 1404 1410 1416 1422 1428 1434 1440 1446 1452 1458 1464 1470 1476 1482 1488 1494 1500 1506 1512 1518 1524 1530 1536 1542 1548 1554 1560 1566 1572 1578 1584 1590 1596 1602 1608 1614 1620 1626 1632 1638 1644 1650 1656 1662 1668 1674 1680 1686 1692 1698 1704 1710 1716 1722 1728 1734 1740 1746 1752 1758 1764 1770 1776 1782 1788 1794 1800 1806 1812 1818 1824 1830 1836 1842 1848 1854 1860 1866 1872 1878 1884 1890 1896 1902 1908 1914 1920 1926 1932 1938 1944 1950 1956 1962 1968 1974 1980 1986 1992 1998 2004 2010 2016 2022 2028 2034 2040 2046 2052 2058 2064 2070 2076 2082 2088 2094 2100 2106 2112 2118 2124 2130 2136 2142 2148 2154 2160 2166 2172 2178 2184 2190 2196 2202 2208 2214 2220 2226 2232 2238 2244 2250 2256 2262 2268 2274 2280 2286 2292 2298 2304 2310 2316 2322 2328 2334 2340 2346 2352 2358 2364 2370 2376 2382 2388 2394 2400 2406 2412 2418 2424 2430 2436 2442 2448 2454 2460 2466 2472 2478 2484 2490 2496 2502 2508 2514 2520 2526 2532 2538 2544 2550 2556 2562 2568 2574 2580 2586 2592 2598 2604 2610 2616 2622 2628 2634 2640 2646 2652 2658 2664 2670 2676 2682 2688 2694 2700 2706 2712 2718 2724 2730 2736 2742 2748 2754 2760 2766 2772 2778 2784 2790 2796 2802 2808 2814 2820 2826 2832 2838 2844 2850 2856 2862 2868 2874 2880 2886 2892 2898 2904 2910 2916 2922 2928 2934 2940 2946 2952 2958 2964 2970 2976 2982 2988 2994 3000 3006 3012 3018 3024 3030 3036 3042 3048 3054 3060 3066 3072 3078 3084 3090 3096 3102 3108 3114 3120 3126 3132 3138 3144 3150 3156 3162 3168 3174 3180 3186 3192 3198 3204 3210 3216 3222 3228 3234 3240 3246 3252 3258 3264 3270 3276 3282 3288 3294 3300 3306 3312 3318 3324 3330 3336 3342 3348 3354 3360 3366 3372 3378 3384 3390 3396 3402 3408 3414 3420 3426 3432 3438 3444 3450 3456 3462 3468 3474 3480 3486 3492 3498 3504 3510 3516 3522 3528 3534 3540 3546 3552 3558 3564 3570 3576 3582 3588 3594 3600 3606 3612 3618 3624 3630 3636 3642 3648 3654 3660 3666 3672 3678 3684 3690 3696 3702 3708 3714 3720 3726 3732 3738 3744 3750 3756 3762 3768 3774 3780 3786 3792 3798 3804 3810 3816 3822 3828 3834 3840 3846 3852 3858 3864 3870 3876 3882 3888 3894 3900 3906 3912 3918 3924 3930 3936 3942 3948 3954 3960 3966 3972 3978 3984 3990 3996 4002 4008 4014 4020 4026 4032 4038 4044 4050 4056 4062 4068 4074 4080 4086 4092 4098 4104 4110 4116 4122 4128 4134 4140 4146 4152 4158 4164 4170 4176 4182 4188 4194 4200 4206 4212 4218 4224 4230 4236 4242 4248 4254 4260 4266 4272 4278 4284 4290 4296 4302 4308 4314 4320 4326 4332 4338 4344 4350 4356 4362 4368 4374 4380 4386 4392 4398 4404 4410 4416 4422 4428 4434 4440 4446 4452 4458 4464 4470 4476 4482 4488 4494 4500 4506 4512 4518 4524 4530 4536 4542 4548 4554 4560 4566 4572 4578 4584 4590 4596 4602 4608 4614 4620 4626 4632 4638 4644 4650 4656 4662 4668 4674 4680 4686 4692 4698 4704 4710 4716 4722 4728 4734 4740 4746 4752 4758 4764 4770 4776 4782 4788 4794 4800 4806 4812 4818 4824 4830 4836

so on.

SOLUTION: This is a new 'type-10' phosphodiesterase which has an amino acid sequence shown by formula I or II, or an amino acid sequence obtained by deleting, substituting, adding, or inserting one or more amino acid(s) from, in, to, or into the amino acid sequence, has a cyclic nucleotide-hydrolyzing activity, and is useful for the study on the complex mechanism of intracellular propagation of information, the development of a new medicine by screening an inhibitor having high specificity to the enzyme, and so on. This enzyme was obtained by screening EST database using a catalytic region of human phosphodiesterase 5A as a query sequence, followed by expressing a gene obtained by carrying out PCR using the obtained new sequences as primers.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-224992

(P2000-224992A)

(43) 公開日 平成12年8月15日 (2000.8.15)

(51) Int.Cl.	識別記号	F I	ページ数 (参考)
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 N 15/00	Z N A A
C 0 7 K 16/40		C 0 7 K 16/40	
C 1 2 N 1/15		C 1 2 N 1/15	
1/19		1/19	
1/21		1/21	

審査請求 未請求 請求項の数22 O L (全 29 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平11-129343	(71) 出願人	000002956 田辺製薬株式会社 大阪府大阪市中央区道修町3丁目2番10号
(22) 出願日	平成11年5月11日 (1999.5.11)	(72) 発明者	大森 謙司 埼玉県浦和市元町1丁目16番6号
(31) 優先権主張番号	特願平10-338861	(72) 発明者	小寺 淳 埼玉県蓮田市桜台2丁目14番12号
(32) 優先日	平成10年11月30日 (1998.11.30)	(72) 発明者	藤重 古都美 埼玉県戸田市市川岸2丁目3番8号田辺製薬 戸田寮
(33) 優先権主張国	日本 (J P)	(74) 代理人	100076923 弁理士 箕浦 繁夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規ホスホジエステラーゼ及びその遺伝子

(57) 【要約】

【課題】 新規なホスホジエステラーゼおよびその遺伝子を提供する。

【解決手段】 10型ホスホジエステラーゼ (PDE 10) 及びその遺伝子。より詳細には、(A) 配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示されるアミノ酸配列を有する蛋白質、及び (B) 配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示されるアミノ酸配列において、1もしくは複数のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を有する蛋白質であって、かつ、環状ヌクレオチドを加水分解する活性を有する蛋白質、から選択されるホスホジエステラーゼ及びその遺伝子。また、これらを用いて、ホスホジエステラーゼ阻害薬の特徴付け、同定、選択を行う方法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 10型ホスホジエステラーゼ。

【請求項2】 以下の(A)及び(B)から選択される蛋白質である請求項1記載のホスホジエステラーゼ。

(A) 配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示されるアミノ酸配列を有する蛋白質。

(B) 配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示されるアミノ酸配列において、1もしくは複数のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を有する蛋白質であって、かつ、環状ヌクレオチドを加水分解する活性を有する蛋白質。

【請求項3】 以下の(A)及び(B)から選択される蛋白質である請求項1記載のホスホジエステラーゼ。

(A) 配列番号1又は配列番号2で示されるアミノ酸配列を有する蛋白質。

(B) 配列番号1又は配列番号2で示されるアミノ酸配列において、1もしくは複数のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を有する蛋白質であって、かつ、環状ヌクレオチドを加水分解する活性を有する蛋白質。

【請求項4】 ヒト由来である請求項1、2又は3記載のホスホジエステラーゼ。

【請求項5】 ラット由来である請求項1又は2記載のホスホジエステラーゼ。

【請求項6】 請求項1、2又は3記載のホスホジエステラーゼをコードする遺伝子又は核酸。

【請求項7】 以下の(a)及び(b)から選択される遺伝子又は核酸。

(a) 配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示される塩基配列を有するDNAからなる遺伝子又は核酸。

(b) 配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示される塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAからなる遺伝子又は核酸であって、かつ、環状ヌクレオチドを加水分解する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子又は核酸。

【請求項8】 以下の(a)及び(b)から選択される遺伝子又は核酸。

(a) 配列番号1又は配列番号2で示される塩基配列を有するDNAからなる遺伝子又は核酸。

(b) 配列番号1又は配列番号2で示される塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAからなる遺伝子又は核酸であって、かつ、環状ヌクレオチドを加水分解する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子又は核酸。

【請求項9】 ヒト由来である請求項7又は8記載の遺伝子又は核酸。

【請求項10】 ラット由来である請求項7記載の遺伝子又は核酸。

【請求項11】 請求項6、7又は8記載の遺伝子又は核酸を含有する組換えベクター。

【請求項12】 発現ベクターである請求項11記載の組換えベクター。

【請求項13】 請求項12記載の組換えベクターが導入された宿主細胞。

【請求項14】 請求項1記載のホスホジエステラーゼ、酵素の基質及び被験物質を含む系内で酵素反応を行う工程と、請求項1記載のホスホジエステラーゼの酵素活性に対する被験物質の阻害作用を検定する工程を含む、ホスホジエステラーゼ阻害薬を特徴付け、同定又は選択するための方法。

【請求項15】 酵素の基質が、cAMP及びcGMPから選択される環状ヌクレオチドである、請求項14記載の方法。

【請求項16】 ホスホジエステラーゼの酵素活性が、環状ヌクレオチドの加水分解活性である、請求項14記載の方法。

【請求項17】 請求項1記載のホスホジエステラーゼ及び被験物質を含む系内で結合反応を行う工程と、被験物質が請求項1記載のホスホジエステラーゼとの結合能を有するか否かを検定する工程を含む、ホスホジエステラーゼ阻害薬を特徴付け、同定又は選択するための方法。

【請求項18】 複数の型のホスホジエステラーゼに対する阻害作用の選択性によって特徴付け、同定又は選択するために使用される請求項14又は17記載の方法。

【請求項19】 配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示される塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸をプローブ又はプライマーとして用いて、請求項6、7又は8記載の遺伝子又は核酸を検出する方法。

【請求項20】 請求項6、7又は8記載の遺伝子の細胞中での発現を抑制するために使用される、配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示される塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸。

【請求項21】 請求項1記載のホスホジエステラーゼを認識する抗体。

【請求項22】 請求項1記載のホスホジエステラーゼを認識する抗体を用いて、請求項1記載のホスホジエステラーゼの細胞中又は組織中での発現を検出する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、新規なホスホジエステラーゼおよびその遺伝子に関する。

【0002】

【従来の技術】 cAMP及びcGMPなどの環状ヌクレオチドは、細胞内情報伝達のセカンドメッセンジャーとして、生体内の多くの機能調節に関与している(Kukove

tzら、Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 第310巻、第129-138頁、1979年; Schramら、Science, 第225巻、第1350-1356頁、1984年; Ignarroら、Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 第25巻、第171-191頁、1985年; Martinら、J. Pharmacol. Exp., 第237巻、第539-547頁、1986年)。

【0003】細胞外からのシグナルにตอบสนองして変動する細胞内cAMP及びcGMPの濃度は、その合成に関与するアデニルシクラーゼ及びグアニルシクラーゼと、環状ヌクレオチド分解に関与するホスホジエステラーゼ(PDE)のバランスによって調節されている。

【0004】これまで、哺乳動物の組織から、環状ヌクレオチドを分解する多くのホスホジエステラーゼが見出されており、アミノ酸配列の相同性、生化学的性質、阻害剤による特徴付けなどから、複数の型に分類されている(Beavo、Physiol. Rev., 第75巻、第725-748頁、1995年)。

【0005】例えば、PDE1は、Ca²⁺/カルモジュリン依存性のPDEであり、cAMPとcGMPの両者を加水分解する。PDE2はcGMPで活性化され、cAMPとcGMPの両者を加水分解する。PDE3に分類されるPDEは、cGMPで阻害される。PDE4は、cAMPを特異的に基質とし、またロリプラム(Rolipram)感受性である。PDE5は、cGMPを特異的に基質とする。PDE6は、フォトレセプターcGMP-PDEである。PDE7は、cAMPを特異的に基質とし、ロリプラム非感受性である。

【0006】さらに最近、2種類の新たな型のPDEの存在が報告されている(Soderlingら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 第95巻、第8991-8996頁、1998年; Fisherら、Biochem. Biophys. Res. Commun., 第246巻、第570-577頁、1998年; Soderlingら、J. Biol. Chem., 第273巻、第15553-15558頁、1998年; Fisherら、J. Biol. Chem., 第273巻、第15559-15564頁、1998年; Hayashiら、Biochem. Biophys. Res. Commun., 第250巻、第751-756頁、1998年)。一つはPDE8と称され、cAMPを特異的に基質とする。もう一つはPDE9と称され、cGMPを特異的に基質とする。これら2つのPDEはIBMX(3-イソブチル-1-メチルキサンチン)に対して非感受性であることが報告されている。

【0007】また、PDEは医薬の開発研究においても重要な標的分子であり、阻害剤研究が精力的に進められている。既知医薬の中にPDE阻害作用が見出されたものがあり、また、特異的なPDE阻害剤が有用な治療薬となり得ることが見出されている。

【0008】例えば、強心剤であるミルリノン(Milrinone)、ザプリナスト(Zaprinast)は各々PDE3及びPDE5の阻害剤である(Harrisonら、Mol. Pharmacol., 第29巻、第506-514頁、1986年; Gillespieら、Mol. Pharmacol., 第36巻、第773-781頁、1989年)。また、抗

鬱剤であるロリプラムは、PDE4阻害剤である(Schneiderら、Eur. J. Pharmacol., 第127巻、第105-115頁、1986年)。PDE4阻害剤は、抗炎症剤あるいは喘息治療薬としても開発されている。また、PDE5の選択的阻害剤は勃起不全治療薬として開発されている。

【0009】この他、IBMXは、多くの型のPDEに作用する非選択的阻害剤として知られている。ビンボセチン(Vinpocetin)はPDE1阻害剤、EHNA(エリトロー9-(2-ヒドロキシ-3-ノニル)アデニン)はPDE2阻害剤、ジピリダモール(Dipyridamole)はPDE5とPDE6の阻害剤、SCH51866はPDE1とPDE5の阻害剤、E4021はPDE5の阻害剤として知られている。

【0010】治療効果が高く、副作用の少ない優れた医薬を開発するためには、標的とするある型のPDEに対して選択性の高い阻害剤を選択することが望まれている。

【0011】さらに、従来のものとは異なる分子種である新しい型のPDEを見出すことは、細胞内情報伝達の複合的なメカニズムの研究のためにも、また、新たな治療薬の標的分子となる可能性からも望まれていた。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、新規な型のホスホジエステラーゼ(10型ホスホジエステラーゼ(PDE10))およびその遺伝子を提供することにある。また、ホスホジエステラーゼ阻害薬の特徴付け、同定、選択を行う新しい方法を提供することにある。また、上記以外の目的については以下の記載より明らかである。

【0013】

【課題を解決するための手段】発明者らは、従来のものとは異なる分子種である新しい型のホスホジエステラーゼ(PDE10とも称する)をコードする全長cDNAをヒト及びラットから単離した。また、ヒトのホスホジエステラーゼ(PDE10)を遺伝子組換え技術によりCOS細胞中で発現させ、単離することに成功した。さらに酵素としての特徴づけを行い、本発明を完成するに至った。

【0014】すなわち、本発明は、10型ホスホジエステラーゼ(PDE10)及びその遺伝子である。より詳細には、以下の(A)又は(B)から選択されるホスホジエステラーゼである。

【0015】(A)配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示されるアミノ酸配列を有する蛋白質、及び(B)配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示されるアミノ酸配列において、1もしくは複数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を有する蛋白質であって、かつ、環状ヌクレオチドを加水分解する活性を有する蛋白質。

【0016】また本発明は、以下の(a)又は(b)から選択される遺伝子又は核酸である。

【0017】(a) 配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示される塩基配列を有するDNAからなる遺伝子又は核酸、及び、(b) 配列番号1、配列番号2、配列番号15又は配列番号16で示される塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAからなる遺伝子又は核酸であって、かつ、環状ヌクレオチドを加水分解する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子又は核酸。

【0018】さらに本発明は、これらを含む組換えベクターならびに宿主細胞である。さらに、これらを用いて、ホスホジエステラーゼ阻害薬の特徴付け、同定、選択を行う方法である。

【0019】後記配列表の配列番号1及び2は、発明者が単離した新規ヒトPDE遺伝子(ヒトPDE10遺伝子)の翻訳領域全長を含むcDNAの塩基配列(上段)及びそれにコードされた新規ヒトPDE(ヒトPDE10)のアミノ酸配列(下段)を表す。

【0020】配列番号1及び2は新規ヒトPDE遺伝子(ヒトPDE10遺伝子)の2種類のバリエーションに由来する配列である。

【0021】前記配列番号1及び配列番号2に示される塩基配列またはアミノ酸配列について、既知DNAデータベース(GenBankおよびEMBL)およびプロテインデータベース(NBRFおよびSWISS-PROT)に対してホモロジー検索を行った結果、EST(Genbank/EMBL ID No:W04835及びAI300062)を除き、同一分子種に由来すると考えられるものは見出されなかった。

【0022】後記配列表の配列番号15及び16は、発明者が単離した新規ラットPDE遺伝子(ラットPDE10遺伝子)の翻訳領域全長を含むcDNAの塩基配列(上段)及びそれにコードされた新規ラットPDE(ラットPDE10)のアミノ酸配列(下段)を表す。

【0023】配列番号15及び16は新規ラットPDE遺伝子(ラットPDE10遺伝子)の2種類のバリエーションに由来する配列である。

【0024】前記配列番号15及び配列番号16に示される塩基配列またはアミノ酸配列について、既知DNAデータベース(GenBankおよびEMBL)およびプロテインデータベース(NBRFおよびSWISS-PROT)に対してホモロジー検索を行った結果、EST(Genbank/EMBL ID No:H32734)を除き、同一分子種に由来すると考えられるものは見出されなかった。

【0025】ヒトとラットのPDE10各々のアミノ酸配列を比較した場合、約96%の高い相同性が認められる。

【0026】

【発明の実施の形態】本発明の蛋白質としては、配列番

号1、2、15又は16で示されるアミノ酸配列を有するものが挙げられる。また、配列番号1、2、15又は16で示されるアミノ酸配列において、1もしくは複数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を有するものが挙げられる。アミノ酸の欠失、置換もしくは付加は、環状ヌクレオチドを加水分解する活性が失われない程度であればよく、通常1〜約160個、好ましくは1〜約80個、より好ましくは1〜約40個である。このような蛋白質は、配列番号1、2、15又は16で示されたアミノ酸配列と通常約80%以上、好ましくは約90%以上、より好ましくは約95%以上のアミノ酸レベルのホモロジーを有する。このような蛋白質には、自然界で発見される変異型蛋白質のほか、人為的に改変した変異蛋白質、異種生物由来の蛋白質等が含まれる。

【0027】本発明の遺伝子又は核酸としては、配列番号1、2、15又は16で示される塩基配列を有するDNAを含むものが挙げられる。また、配列番号1、2、15又は16で示される塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得るDNAを含むものが挙げられる。このようなハイブリダイズし得るDNAは、環状ヌクレオチドを加水分解する活性を有する蛋白質をコードするものであればよい。このようなDNAは、配列番号1、2、15又は16で示される塩基配列と、通常約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上のホモロジーを有する。このような遺伝子又は核酸としては、自然界で発見される変異型遺伝子、人為的に改変した変異型遺伝子、異種生物由来の相同遺伝子等が含まれる。

【0028】本発明において、ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーションは、通常のストリンジェントな条件では、6×SSCまたはこれと同等の塩濃度のハイブリダイゼーション溶液中、50〜70℃の温度条件下、約16時間ハイブリダイゼーションを行い、6×SSCまたはこれと同等の塩濃度の溶液等で必要に応じて予備洗浄を行った後、1×SSCまたはこれと同等の塩濃度の溶液中で洗浄を行うことにより実施できる。また、より高いストリンジェンシーを有する条件(ハイストリンジェントな条件)では、前記において、洗浄を0.1×SSCまたはこれと同等の塩濃度の溶液で行うことにより実施できる。

【0029】本発明の遺伝子又は核酸は、哺乳動物の組織や細胞を遺伝子源としてスクリーニングを行うことにより単離取得できる。哺乳動物としては、イヌ、ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、サル、ブタ、ウサギ、ラットおよびマウスなどの非ヒト動物のほか、ヒトが挙げられる。

【0030】本発明の遺伝子又は核酸は、本明細書中に開示された配列情報(後記配列表の配列番号1、2、15及び16)を利用して取得することができる。例えば、開示された塩基配列の情報をもとにプライマーやプ

ローブを設計し、これらを用いるPCR (polymerase chain reaction) 法、コロニーハイブリダイゼーション法、ブランクハイブリダイゼーション法を適宜組み合わせ、DNAライブラリーから選択・取得できる。

【0031】例えば、哺乳動物の細胞や組織から調製したmRNAからcDNAを合成し、これを鋳型として、PCR法によりcDNA断片を得る。得られたcDNAをプローブとして用い、コロニーハイブリダイゼーション法又はブランクハイブリダイゼーション法によりcDNAライブラリーをスクリーニングして、全長cDNAを取得できる。また、ゲノミックDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、ゲノム遺伝子を単離することができる。また、他の哺乳動物のDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、異種生物由来の相同遺伝子を単離することができる。このような哺乳動物としては、例えばイヌ、ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、サル、ブタ、ウサギおよびラットなどの非ヒト動物のほか、ヒトが挙げられる。

【0032】cDNAライブラリーおよびゲノミックDNAライブラリー等のDNAライブラリーは、例えば、「Molecular Cloning」(Sambrook, J., Fritsch, E.F. および Maniatis, T. 著、Cold Spring Harbor Laboratory Pressより1989年に発刊) に記載の方法により調製することができる。あるいは、市販のライブラリーがある場合はこれを用いてもよい。

【0033】得られたcDNAの塩基配列を決定することにより、遺伝子産物の蛋白質をコードする翻訳領域を決定でき、この蛋白質のアミノ酸配列を得ることができる。

【0034】本発明のPDEは、通常の遺伝子組換え技術により過剰発現 (overexpression) させ生産することができる。また、他の蛋白質やペプチドとの融合蛋白質 (fusion protein) の形で発現させ生産することもできる。

【0035】例えば、PDEをコードするDNAを、適当なプロモーターの下流に連結される形でベクターに挿入し、発現ベクターを構築する。ついで得られた発現ベクターを宿主細胞に導入する。

【0036】発現系 (宿主-ベクター系) としては、例えば、細菌、酵母、昆虫細胞及び哺乳動物細胞の発現系などが挙げられる。このうち、機能がよく保存された蛋白質を得るためには、昆虫細胞 (Spodoptera frugiperda SF9, SF21等) および哺乳動物細胞 (サルCOS-7細胞、チャイニーズハムスターCHO細胞、ヒトHeLa細胞等) を宿主として用いることが好ましい。

【0037】ベクターとしては、哺乳動物細胞系の場合、レトロウイルス系ベクター、パピローマウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、SV40系ベクター等、昆虫細胞系の場合、バキュロウイルスベクター等を用いることができる。

【0038】プロモーターとしては、哺乳動物細胞系の場合、SV40プロモーター、LTRプロモーター、エロンゲーション1 α プロモーター等、昆虫細胞系の場合、ポリヘドリンプロモーター等を用いることができる。

【0039】PDEをコードするDNAとしては、自然界に存在するmRNAに対応するcDNA (例えば、配列番号1、2、15及び16に示される塩基配列を有するもの) を用いることができるが、これに限定されない。目的とする蛋白質のアミノ酸配列に対応するDNAを設計して用いることもできる。この場合、ひとつのアミノ酸をコードするコドンは各々1~6種類知られており、用いるコドンの選択は任意でよいが、例えば発現に利用する宿主のコドン使用頻度を考慮して、より発現効率の高い配列を設計することができる。設計した塩基配列を持つDNAは、DNAの化学合成、前記cDNAの断片化と結合、塩基配列の一部改変等によって取得できる。人為的な塩基配列の一部改変、変異導入は、所望の改変をコードする合成オリゴヌクレオチドからなるプライマーを利用して部位特異的変異導入法 (site specific mutagenesis) (Proceedings of National Academy of Sciences, 第81巻、第5662~5666頁、1984年) 等によって実施できる。

【0040】本発明のPDEは、発現ベクターを導入した細胞の培養物などから、公知の精製方法 (無機塩類による塩析、有機溶媒による分画沈殿、イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー、アフィニティークラムクロマトグラフィー、ゲルろ過法など) を適宜組合せることによって、分離精製できる。

【0041】本発明の遺伝子又は核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸 (オリゴヌクレオチドもしくはポリヌクレオチド) は、本発明の遺伝子を検出するためのプローブとして使用できる。また、遺伝子の発現を変調させるために、例えばアンチセンスオリゴヌクレオチドや、リボザイム、デコイとして使用することもできる。このような核酸としては、例えば、配列番号1、2、15又は16で示される塩基配列の中の通常、連続する14塩基以上の部分配列もしくはその相補的な配列を有するヌクレオチドを用いることができる。

【0042】本発明のPDE又はこれと免疫学的同等性を有する蛋白質もしくはペプチド (蛋白質の断片または部分配列を有する合成ペプチド等) を抗原として用いて、本発明のPDEを認識する抗体を取得することができる。免疫学的同等性を有するとは、例えば本発明のPDEに対する抗体と交差反応を生じるということの意味する。

【0043】ポリクローナル抗体は、宿主動物 (例えば、ラットやウサギ等) に抗原を接種し、免疫血清を回収する通常の方法により製造することができる。モノクローナル抗体は、通常のハイブリドーマ法などの技術に

より製造できる。また、モノクローナル抗体の遺伝子を改変してヒト化モノクローナル抗体等を作製できる。

【0044】上記で得られた抗体を用いて、通常の免疫化学的方法 (enzyme immuno assay法など) により、本発明のPDEの細胞中又は組織中などにおける発現を検出することができる。あるいは、抗体を用いるアフィニティクロマトグラフィーにより本発明のPDEの精製を実施することができる。

【0045】本発明のPDEが、環状ヌクレオチド (cAMP又はcGMP) を加水分解する活性を有することは、一般的に知られた通常のPDE活性測定の方法 (Thompsonら、Adv.Cyclic Nucleotide Res.、第10巻、第69-92頁、1979年; Yanakaら、Eur.J.Biochem.、第255巻、第391-399頁、1998年) により確認することができる。

【0046】酵素反応の基質としては、cAMP及びcGMPなどの環状ヌクレオチド及びその誘導体を用いることができる。本発明のPDEは、cAMP及びcGMPのいずれをも基質としこれらを加水分解する。

【0047】本発明のPDEは、ホスホジエステラーゼ阻害剤の特徴付け、同定又は選択のために使用することができる。

【0048】例えば、本発明のPDE、酵素の基質及び被験物質 (好ましくは低分子化合物など) を含む系内で酵素反応を行い、酵素活性 (環状ヌクレオチドを加水分解する活性) に対する被験物質の阻害作用を検定する。

【0049】あるいは、本発明のPDE及び被験物質 (好ましくは低分子化合物など) を含む系内で結合反応を行い、被験物質が本発明のPDEに対して結合能を有するか否かを検定する。結合能力を有する被験物質 (リガンド) は、阻害剤となる可能性が高い。

【0050】さらに、被験物質 (好ましくは低分子化合物など) について、本発明のPDEに対する阻害作用 (又は結合能) を調べ、他の型のPDEに対する阻害作用 (又は結合能) と比較することにより阻害作用 (又は結合能) の選択性を判定できる。これにより、特定の型のPDEに対して相対的に高い作用を有する阻害剤 (選択的な阻害剤) を選択することができる。また、阻害剤を同定し、特徴付けることができる。

【0051】以下、実施例をもって本発明をさらに詳しく説明するが、これらの実施例は本発明を制限するものではない。

【0052】なお、下記実施例において、各操作は特に明示がない限り、「モレキュラークローニング (Molecular Cloning)」(Sambrook, J., Fritsch, E.F. 及び Maniatis, T. 著、Cold Spring Harbor Laboratory Press より1989年に発刊) に記載の方法により行うか、または、市販の試薬やキットを用いる場合には市販品の指示書に従って使用した。

【0053】

【実施例】実施例1 ヒト新規PDE (PDE10) のcDNAの単離 (1)

ヒトPDE5A (Genbank/EMBL データベース Accession No. D89094; Yanakaら、Eur.J.Biochem.、第255巻、第391-399頁、1998年) のC-末端触媒領域 (第500~875番目のアミノ酸残基に相当する領域) のアミノ酸配列をクエリー配列として、BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 法により、EST (Expressed sequence tags) データベースを検索した。これにより、いくつかのESTがヒトPDE5AのC-末端触媒領域と相同性を有するものとして見出され、さらにこれらの中から、既知PDEの配列とは異なる新規配列を有する一つのEST (ID No: W04835) を見出した。

【0054】このEST (ID No. W04835) に相当するDNA断片 (約400bp) を、PCR (polymerase chain reaction) 法にて取得した。

【0055】PCRの反応は、1サイクルが94℃1分間、55℃2分間、および72℃2分間の条件で、合計60サイクル行った。

【0056】最初の30サイクルは、プライマーとして、後記配列表の配列番号3及び配列番号4に示した配列を有するオリゴヌクレオチドを、各々センスプライマー及びアンチセンスプライマーとして用いた。また、鋳型としては、ヒト胎児肺由来cDNAライブラリー (ベクター: λ gt11ファージ) (Clontech社製) を用いた。

【0057】続く30サイクルは、前記PCRの産物の1/10量を鋳型として行った。プライマーは、後記配列表の配列番号5及び配列番号6に示した配列を有するオリゴヌクレオチドを、各々センスプライマー及びアンチセンスプライマーとして用いた。

【0058】得られたPCR産物を制限酵素で処理した後、ベクタープラスミドpGEM-Teasy (Promega社製) に連結し、その塩基配列を決定した。塩基配列は、自動DNAシーケンサー (LI-COR 4000L; LI-COR社製およびABI PRISM 310; PEアプライドバイオシステムズ社製) を用い、ダイデオキシ法により決定した (以下、同)。これにより、得られたDNA断片が、前記EST (ID No. W04835) とほぼ同様の配列を有していることを確認した。

【0059】このDNA断片 (32 Pでラベルしたもの) をプローブとし、ブランクハイブリダイゼーションを行った。cDNAライブラリーは、前記と同様のヒト胎児肺由来cDNAライブラリーを用いた。

【0060】ブランクハイブリダイゼーションは、以下のように高ストリンジントな条件下で行った。すなわち、ブランクをアルカリ処理し、DNAを変性固定したナイロンメンブレン (Hybond-N+) を、プローブを含むハイブリダイゼーション溶液 (6xSSC、0.5% S

DS、5×デンハルト溶液、100 μg/mlのサケ精子DNA)中、65℃、16時間、置いてハイブリダイゼーションさせた。(なお、1×SSCの組成は、0.15M塩化ナトリウムおよび15mMクエン酸ナトリウム、pH7.0であり、1×デンハルト溶液の組成は、0.02%ウシ血清アルブミン、0.02%ポリビニルピロリドンおよびFicoll 400である。以下、同)ついて予備洗浄溶液(2×SSC、0.5%SDS)を用い、室温で10分間、メンブレンを洗浄した後、さらに洗浄溶液(0.1×SSC、0.5%SDS)を用い、65℃で30分間、2度洗浄した。その後-70℃で1日間、オートラジオグラフィーを行い、陽性クローンを検出した。

【0061】得られた陽性クローン(クローンヒトPDE10A1と称する)から挿入cDNA断片を単離し、ベクタープラスミドpBluescript II SK(+)(Stratagene社製)にサブクローニングした。得られたプラスミドを用いcDNA断片の塩基配列を決定した。

【0062】単離したcDNA(4576bp)は、新規なヒトPDE(以下、PDE10と称する)遺伝子の全長cDNAであると考えられた。このcDNAの塩基配列を解析して、オープンリーディングフレームを同定し、さらにそれにコードされる蛋白質のアミノ酸配列を決定した。

【0063】後記配列表の配列番号1に、この全長cDNAの塩基配列(配列番号1上段)及びそれにコードされる蛋白質(新規なヒトPDE(PDE10))のアミノ酸配列(配列番号1下段)を示した。アミノ酸配列(779アミノ酸残基)から推定されるPDE10の分子量は、約88Kdであった。

【0064】また、既知PDEとのアミノ酸配列上のホモロジーを調べたところ、配列の類似性から、PDE10のcGMP結合領域及び触媒領域は、各々第243~445番目及び493~728番目のアミノ酸残基に相当する領域と推定された。

【0065】PDE10のアミノ酸配列を、既知の各種cGMP結合型ヒトPDEと比較すると、触媒領域においては、PDE2Aと42%、PDE5Aと47%、PDE6Aと40%、PDE6Bと42%のホモロジーを示した。

【0066】また、cGMP結合領域においては、PDE2A、PDE5A及び光受容体ホスホジエステラーゼと、各々の18~38%のホモロジーを示した。

【0067】PDE10は、典型的なcGMP結合モチーフを含むcGMP結合領域を1つ有する。しかし、PDE5A中に見つけられたcAMP又はcGMP依存キナーゼのリン酸化領域は、この配列中には認められなかった。

【0068】さらに、得られたPDE10のcDNA塩

基配列情報をもとに翻訳領域を囲むPCRプライマーを設計し、これを用いるRT-PCR(reverse transcript-polymerase chain reaction)により、ヒト肺由来mRNA中に前記と同一のPDE10クローンが存在することを以下のようにして確認した。

【0069】すなわち、ヒト胎児肺ポリ(A)+RNA(Clontech Laboratories社製)とランダムプライマー(ヘキサマー)を用いて42℃、60分間、逆転写反応を行った後、得られたcDNAを鋳型としてPCRを行った。PCRのプライマーは、後記配列表の配列番号7~10に示した塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを合成して用いた。PCRの反応は前記と同様の条件で行った。

【0070】PCRで増幅されたDNA断片(約2.4kb)の塩基配列を決定し、前記cDNA配列と比較したところ、PCRで増幅された部分の塩基配列は一致した。

【0071】実施例2 ヒト新規PDE(PDE10)のcDNAの単離(2)

前記実施例1で得られたPDE10のcDNA塩基配列情報をもとに翻訳領域を囲むPCRプライマーを設計し、これを用いるRT-PCRにより、新たなcDNAクローンの取得を試みた。

【0072】まず、ヒト胎児肺ポリ(A)+RNA(Clontech Laboratories社製)とランダムプライマー(ヘキサマー)を用いて42℃、60分間、逆転写反応を行った後、得られたcDNAを鋳型としてPCRを行った。PCRのプライマーは、後記配列表の配列番号11~14に示した塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを合成して用いた。PCRの反応は、1サイクルが94℃30秒間、55℃30秒間、および72℃2分間の条件で、合計60サイクル行い、最終サイクルとして72℃で5分間の条件で1サイクルを行った。

【0073】最初の30サイクルは、プライマーとして、後記配列表の配列番号11及び配列番号12に示した配列を有するオリゴヌクレオチドを、各々センスプライマー及びアンチセンスプライマーとして用いた。続く30サイクルは、プライマーとして、後記配列表の配列番号13及び配列番号14に示した配列を有するオリゴヌクレオチドを、各々センスプライマー及びアンチセンスプライマーとして用いた。

【0074】PCRで増幅されたDNA断片(約2.4kb)を新規cDNAクローン(クローンヒトPDE10A2と称する)として取得し、その塩基配列を決定した。

【0075】これを、実施例1で得たcDNA配列と比較したところ、5'末端領域で一部塩基配列の相違が見られたが、それ以外では一致していた。

【0076】新たに得られたクローン(ヒトPDE10

A2) のcDNA塩基配列及びそれにコードされる蛋白質のアミノ酸配列を、後記配列表の配列番号2に示した。

【0077】新たに得られたクローン(ヒトPDE10A2)は、実施例1のPDE10(ヒトPDE10A1と称する)のサブライシングバリエーションに相当すると推察された。ヒトPDE10A1とヒトPDE10A2は、アミノ酸配列上のN末端側(配列番号1の第1~13番目のアミノ酸残基、配列番号2の第1~23番目のアミノ酸残基)及びこれらに対応するcDNA配列が相違している。またこの相違部分には、cAMP又はcGMP依存キナーゼによってリン酸化を受けるとされるアミノ酸配列のモチーフが存在することを確認した。

【0078】実施例3 ヒトPDE10のCOS細胞中での発現と精製

(1) PDE10発現用ベクタープラスミドの構築
前記実施例1で得たヒトPDE10のcDNAを、制限酵素SspI及びNotIで消化し、得られた断片(約2.8kb)をベクタープラスミドpBluescript II SK(+) (Stratagene社製)のSpeI(平滑末端化)-NotI部位に挿入した。得られたプラスミドを、制限酵素NotI(平滑末端化)及びBamHIで消化し得られた断片(約2.8kb)を、ベクタープラスミドpSVL(Amersham Pharmacia Biotech社製)のXbaI(平滑末端化)-BamHI部位に挿入して、PDE10発現用ベクタープラスミドpSVL-PDE10を得た。pSVL-PDE10においては、SV40プロモーターの下流にヒトPDE10のcDNAが機能的に連結されている。

【0079】(2) COS細胞中での発現
COS-7細胞(ATCC; CRL1651)は、10%ウシ胎児血清、100ユニット/mlペニシリン及び100µM/ストレプトマイシンを添加したダルベッコ・イーグル培地(Dulbecco's modified Eagle's medium) (Gibco社製)中、37℃、5%二酸化炭素の条件下で継代培養した。

【0080】COS-7細胞に、前記pSVL-PDE10(又は対照としてベクターpSVL)をトランスフェクション(一過性トランスフェクション; transient transfection)した。トランスフェクションは、ポリカチオン性リポソーム試薬(商品名: LipofectAMINE, Gibco社製)を用いて行った。

【0081】(3) 組換えヒトPDE10の精製
トランスフェクションの48時間後、細胞を、氷冷したリン酸塩緩衝液で洗浄した後、氷冷ホモジナイズ用緩衝液(20mM Tris-HCl, pH7.4、2mM 酢酸マグネシウム、0.3mM塩化カルシウム、1mM ジチオスレイトール、40µMロイペプチン、1.3mMベンズアミジン、0.2mMフェニルメチルスルホニ

ルフルオリド、1mMアジ化ナトリウム)中で超音波処理して破碎した。得られたホモジネートを遠心(10000g、60分間)し、上清を分取した。

【0082】溶出緩衝液(20mM Tris-HCl, pH7.4、1mM塩化カルシウム、1mMジチオスレイトール、2µMロイペプチン、5mMベンズアミジン)で平衡化したMonoQセファロース高速カラム(Amersham Pharmacia Biotech社製)に、前記で得た上清を供した。カラムを溶出緩衝液20mlで洗浄した後、塩化ナトリウム勾配(0、350及び800mM、各20ml)で蛋白を溶出し、氷冷下2mlずつ分画した。各画分について、cAMP及びcGMPを基質とする加水分解活性(PDE活性)を測定した。

【0083】PDE活性の測定は、ラジオラベル核酸法により行った。すなわち、1µMの非標識cGMP(又はcAMP)及び22nMの³H]-cGMP(又は³H]-cAMP)(Amersham Pharmacia Biotech社製)を含むアッセイ用緩衝液(50mM Tris-HCl, pH8.0、5mM塩化マグネシウム、4mM 2-メルカプトエタノール、0.33mg/mlウシ血清アルブミン(脂肪酸不含、シグマ社製)、)500µl中に10~30µlの酵素溶液を添加して反応を開始した。37℃で30分間保温して反応を行った後、1.5分間煮沸して反応を停止させ、さらに1mg/mlのヘビ毒(Crotalus atrox snake venom)100µlを添加して37℃で30分間保温した。ついで、500µlのメタノールを添加し、反応液をDowexカラム(1x8-400)で処理した後、各溶出液に液体シンチレーションカクテルを加え、ラジオ活性を測定した。

【0084】MonoQセファロースカラムクロマトグラフィーで分画した細胞抽出液の各画分のPDE活性を、図1に示した。

【0085】PDE10発現用ベクター(pSVL-PDE10)をトランスフェクトした細胞の抽出液画分No.14に、cAMP及びcGMPに対する強い加水分解活性のピークが認められた。このピークは、ベクター(pSVL)のみをトランスフェクトした細胞の抽出液では見られなかったことから、組換えヒトPDEに由来すると考えられた。また、PDE10はcAMP及びcGMPのいずれをも加水分解する活性を有することがわかった。この画分No.14を部分精製組換えヒトPDEとして用いた。

【0086】画分No.24付近にも活性のピークが認められたが、ベクターのみをトランスフェクトした細胞の抽出液でも同様のピークは見られたことから、これは宿主であるCOS細胞のPDEに由来すると考えられた。

【0087】実施例4 ヒトPDE10の酵素的性質の解析

前記実施例3と同様にして得た精製組換えヒトPDEを用い、以下のようにして種々の酵素的性質を解析した。

【0088】(1) 酵素反応の速度論的解析

種々の基質(cGMP又はcAMP)濃度を用いて酵素反応を行い、PDE活性(反応初速度)を測定した。酵素反応とPDE活性測定は、前記実施例3(3)と同様にして行った。但し、反応液中、非標識cAMPを添加する場合の濃度は0.1~2 μ M、非標識cGMPを添加する場合の濃度は0.2~16 μ Mとした。また、反応終了後の基質の分解率が約10%程度となるよう、酵素量を設定し、反応時間は30分間とした。

【0089】結果(Lineweaver-Burk plot)を図2に示した。解析の結果から、ヒトPDE10のcAMPを基質とした時の K_m 値は、7.2 \pm 0.62 μ Mであり、 V_{max} は1.4 \pm 0.077 pmol/分/ μ gであった。また、cGMPを基質とした時の K_m 値は、0.26 \pm 0.048 μ Mであり、 V_{max} は0.63 \pm 0.12 pmol/分/ μ gであった。

【0090】これらのことから、PDE10はcAMP及びcGMPのいずれをも加水分解する活性を有するが、cAMPに対してより強い親和性を有することがわかった。

【0091】(2) cAMP分解活性に対するcGMPの影響

cAMPを基質として酵素反応を行い、反応液中に種々の濃度のcGMPを添加してPDE活性に対する影響を調べた。

【0092】酵素反応及びPDE活性測定は、前記実施例3(3)と同様にして行った。但し、反応液中、非標識cAMPを0.3 μ M($[^3H]$ -cAMPは22 nM)添加し、さらにcGMP(非標識)を0.01~30 μ M添加(もしくは非添加)した。また、反応終了後

の基質の分解率が約10%程度となるよう、酵素量を設定し、反応時間は30分間とした。

【0093】cGMP非添加の場合のcAMP分解活性を100%とし、活性の相対値(%)を算出した。結果を図3に示した。図3から明らかなように、cGMPの添加濃度に依存して、cAMP分解活性の低下が認められた。PDE10は、PDE2とは異なりcGMP濃度によってPDE活性の上昇は認められなかった。

【0094】(3) 各種既知PDE阻害剤による活性阻害

ヒトPDE10のcAMP及びcGMP加水分解活性(PDE活性)に対する各種既知PDE阻害剤(IBM X、ビンボセチン、EHNA、ザプリナスト、ジビリダモール、ロリプラム、ミルリノン、SCH51866及びE-4021)の作用を以下のようにして調べた。

【0095】cAMP又はcGMPを基質として酵素反応を行い、反応液中に種々の既知PDE阻害剤を添加して加水分解活性を測定した。酵素反応及びPDE活性測定は、前記実施例3(3)と同様にして行った。但し、反応液中、非標識cAMPを添加する場合の濃度は0.3 μ Mとし、非標識cGMPを添加する場合の濃度は7 μ Mとし、反応液中に各種PDE阻害剤を0~100 μ M添加した。

【0096】反応終了後の基質の分解率が約10%程度となるよう、酵素量を設定し、反応時間は30分間とした。

【0097】ヒトPDE10の活性に対する各種PDE阻害剤の阻害作用をIC50で表した結果を、表1に示した。

【0098】

【表1】

第1表

阻害剤	IC50 (μ M)	
	cAMP分解活性 に対する作用	cGMP分解活性 に対する作用
IBMX	17	11
Vinpocetin	77	73
EHNA	>100	>100
Zaprinast	22	14
Dipyridamole	1.2	0.45
Rolipram	>100	>100
Milrinone	>100	>100
SCH51866	3.6	3.3
E4021	7.2	4.2
cAMP	—	0.39
cGMP	14	—

【0099】実施例5 ヒトの各種組織におけるPDE10の発現

ヒトの種々の組織(心臓、脳、脾臓、肺、肝臓、骨格筋、腎臓、精巣、大腿骨、頭頂骨)におけるPDE10

遺伝子発現の有無を、以下のように調べた。

【0100】各種のヒト組織由来mRNA(ポリ(A)+RNA)(商品名 ヒトRNAマルチプル・ティッシュ・ノーザン(MTN)プロット(Clontech L

aboratories社製)を用いてドットブロット解析を行った。プローブとしては、実施例1で得たヒトPDE10 cDNAの中の触媒領域に対応する断片(EcoRI切断断片; 配列番号1の第1509~2308番目の塩基配列に相当)を 32 Pで標識して用いた。

【0101】ポリ(A)+RNA量は、ヒトユビキチンのcDNAと主組織適合性複合体クラスIcをプローブとし、それらに対するシグナルが一定になる様に調節した量を用いた。ハイブリダイゼーションは、以下のような条件下で行った。すなわち、ナイロンメンブレン(Hybond-N+)を、 32 Pで標識したプローブを含むハイブリダイゼーション溶液(50%ホルムアミド、4xSSC、0.5%SDS、5xデンハルト溶液、100 μ g/mlのサケ精子DNA)中、42℃、16時間、置いてハイブリダイゼーションさせた。ついで洗浄溶液(0.2xSSC、0.1%SDS)を用い、60℃で1時間、洗浄した。その後-70℃で5日間、オートラジオグラフィーを行った。

【0102】ドットブロットの結果、図4に示した通り、PDE10 mRNAの強い発現が果核、尾状核及び精巣で検出された。また、やや弱い発現が甲状腺、下垂体腺、視床及び小脳で見られた(発現の強さの順は記載順序の通りであった)。

【0103】また、種々のヒト組織由来mRNAについて、ノーザンブロット解析を、上記と同様のプローブを用い、同様の条件で行った。

【0104】ノーザンブロットの結果、約10kbのバンドが、多数の組織で検出された。しかし、特に精巣では、約10kbのバンドに加え、約4.0kbのバンドが観察されたことから、これら組織では変異型(variant forms)のPDE mRNAが発現していることが考えられた。また、mRNAのバンドのサイズが、単離されたcDNAより長いことから、PDE10のmRNAは長い非翻訳部分を持つと考えられた。

【0105】実施例6 ラット新規PDE(PDE10)のcDNAの単離
後記配列表の配列番号1に示したヒトPDE10 cDNAの翻訳領域のcDNA塩基配列をクエリー配列として、BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)法により、EST(Expressed sequence tags)データベースを検索した。これにより、クエリー配列と極めて相性の高い、ラットPC12細胞由来の1つのEST(IDNo:H32734)を見出した。

【0106】このEST(IDNo. H32734)に相当するDNA断片を、PCR(polymerase chain reaction)法にて取得した。

【0107】PCRの反応は、1サイクルが94℃1分間、55℃1分間、および72℃1分間の条件で、合計

30サイクル行った。

【0108】プライマーとして、後記配列表の配列番号17及び配列番号18に示した配列を有するオリゴヌクレオチドを用いた。また、鋳型としては、ラット脳由来cDNA(Clontech社製)を用いた。

【0109】得られたPCR産物をTA-クローニングベクタープラスミドpGEM-Teasy(Promega社製)に連結し、その塩基配列を決定した。塩基配列は、自動DNAシーケンサー(ABI PRISM310; PEアプライドバイオシステムズ社製)を用い、ダイデオキシ法により決定した。

【0110】これにより、得られたDNA断片が、前記EST(IDNo. H32734)とほぼ同様の配列を有していることを確認した。

【0111】このDNA断片(32 Pでラベルしたもの)をプローブとし、ブランクハイブリダイゼーションを行った。cDNAライブラリーは、 λ ZAPシステムにより構築されたラット脳由来cDNAライブラリー(St rat agene社製)を用いた。

【0112】ブランクハイブリダイゼーションは、以下のような条件下で行った。すなわち、1プレート当たり約 5×10^4 個のブランクとなるようにして、18のプレートのブランクをナイロンメンブレン(Hybond-N+)に移した。このナイロンメンブレンを、プローブを含むハイブリダイゼーション溶液(6xSSC、0.5%SDS、5xデンハルト溶液、100 μ g/mlのサケ精子DNA)中、65℃、16時間置いてハイブリダイゼーションさせた。(なお、1xSSCの組成は、0.15M塩化ナトリウムおよび15mMクエン酸ナトリウム、pH7.0であり、1xデンハルト溶液の組成は、0.02%ウシ血清アルブミン、0.02%ポリビニルピロリドンおよびFicoll 400である。)

ついで予備洗浄溶液(2xSSC、0.5%SDS)を用い、室温で10分間、メンブレンを洗浄した後、さらに洗浄溶液(0.2xSSC、0.1%SDS)を用い、65℃で30分間、2度洗浄した。その後-70℃で2日間、オートラジオグラフィーを行い、陽性クローンを検出した。

【0113】得られた53個の陽性クローンのうち、15個について挿入cDNA断片をプラスミドとして単離回収した。ヒトPDE10のN末端部分に対応する断片(配列番号1の第68~448番目の塩基配列に相当)とC末端部分に対応する断片(配列番号1の第1990~2304番目の塩基配列に相当)をコードするヒトPDE10のcDNA断片をプローブとしてドットブロット解析を行った。

【0114】ハイブリダイゼーションは、以下のような条件下で行った。すなわち、ナイロンメンブレン(Hybnd-N+)を、 32 Pで標識したプローブを含むハイブリダイゼーション溶液(6xSSC、0.5%SDS、5x

デンハルト溶液、100 μ g/mlのサケ精子DNA) 中、55℃、16時間、置いてハイブリダイゼーションさせた。ついて洗浄溶液(1xSSC、0.5%SDS)を用い、55℃で10分間、洗浄した。その後-70℃で4時間、オートラジオグラフィーを行った。

【0115】両プローブとハイブリダイズする5種のクローン(完全長cDNAを保持している可能性のある)を選択した。このうち2種のクローン(クローンNo.8及び17)の挿入cDNA断片の全塩基配列或いは部分塩基配列(クローンラットPDE10A2及びA3と称する)を決定した。

【0116】単離したcDNA(3427及び3080bp)は、新規なラットPDE(以下、PDE10と称する)をコードするcDNAであると考えられた。このcDNAの塩基配列を解析して、オープンリーディングフレームを同定し、さらにそれにコードされる蛋白質のアミノ酸配列を決定した。

【0117】後記配列表の配列番号15及び16に、これらcDNAの塩基配列(配列番号15上段及び16上段)及びそれにコードされる蛋白質(新規なヒトPDE(PDE10))のアミノ酸配列(配列番号15下段及び16下段)を示した。アミノ酸配列(794及び788アミノ酸残基)から推定されるPDE10の分子量は、約90Kdであった。

【0118】ラットPDE10A2とラットPDE10A3は、アミノ酸配列上のN末端側(配列番号15の第1~23番目のアミノ酸残基、配列番号16の第1~17番目のアミノ酸残基)及びこれらに対応するcDNA配列が相違している。

【0119】ラット由来の2種のPDE10(PDE10A2及びPDE10A3)のアミノ酸配列を、ヒト由来のPDE10(PDE10A1及びPDE10A2)のアミノ酸配列と比較したところ、約96%と高い相同性が認められたが、N末端部分及びC末端部分に相違が見られた。

【0120】実施例7 ラットの各種組織におけるPDE10の発現
ラットの種々の組織(心臓、脳、脾臓、肺、肝臓、骨格筋、腎臓、精巣、大腿骨、頭頂骨)におけるPDE10遺伝子発現の有無を、以下のように調べた。

【0121】各種のラット組織由来mRNA(ポリ(A)+RNA)(商品名 ラットRNAマルチプル・ティッシュ・ノーザン(MTN)プロット(Clontech Laboratories社製)を用い、実施例5と同様にしてノーザンブロットングを行った。但し、プローブとしては、実施例6で得たラットPDE10cDNAの中の断片(配列番号15の第1172~1519番目の塩基配列に相当)を³²Pで標識して用いた。

【0122】ノーザンブロットングの結果、脳及び精

巣においてPDE10mRNAの発現が認められ、脳では約9.5kbのバンドが、精巣では約3.5kbのバンドが観察された。

【0123】さらにラット脳に対するin situハイブリダイゼーションを行った。in situハイブリダイゼーション用のRNAプローブは、ジゴキシゲニン-UTP及びDIG RNA標識キット(Boehringer Mannheim社製)を用い、in vitro転写により調製した。その際、鋳型とするDNAとしては、実施例6におけるブランクハイブリダイゼーションのためのプローブとして用いたcDNA断片を、ベクタープラスミドpGEM-Teasy(Promega社製)にサブクローニングした後、制限酵素SphI(アンチセンスプローブ用)及び制限酵素SacI(センスプローブ用)でリニアライズしたものを各1 μ g用いた。アンチセンスプローブはT7 RNAポリメラーゼを、またセンスプローブはSP6 RNAポリメラーゼを用いて合成した。

【0124】10週齢の雄性ラットから得た脳を用いて10 μ m厚の凍結切片を作成し、4%ホルムアルデヒドを用いて固定後、10 μ g/mlプロテイナーゼK及び0.1Mトリエタノールアミン(0.25%無水酢酸中)で処理した。その後アルコールで脱水した。800 μ lのハイブリダイゼーション溶液(20mM Tris-HCl, pH8.0, 300mM塩化ナトリウム、10% Sodium dextran sulfate、50%ホルムアミド、0.2% N-ラウロイルサルコシン、100 μ g/mlのサケ精子DNA、1xデンハルト溶液)で50℃30分間プレハイブリダイゼーションした後、ジゴキシゲニンにより標識したRNAプローブを用いて、800 μ lのハイブリダイゼーション溶液中、50℃、16時間、湿潤箱中でハイブリダイゼーションを行った。

【0125】ハイブリダイゼーション終了後、高ストリンジェントな溶液(50%ホルムアミド、300mM塩化ナトリウム、30mMクエン酸ナトリウム)で60℃、30分間洗浄し、1 μ g/mlのRNase Aで37℃、10分間処理し、もう一度、前記の高ストリンジェントな溶液で洗浄した。

【0126】さらに、切片を抗ジゴキシゲニンポロクローナル抗体(1.5%のブロッッキング試薬(Boehringer Mannheim社製)を含有する緩衝液A(100mM Tris-HCl, pH7.5、150mM塩化ナトリウム)にて1/500希釈したもの)と共に5分間、室温でインキュベートし、その後緩衝液Aで十分に洗浄した。

【0127】さらに切片を、調製したばかりのニトロブルーテトラゾリウム及び5-ブールモ-4-クロロ-3-インドリルホスフェートを含有するColor-Substrate溶液(100mM Tris-HCl, pH9.5、100mM塩化ナトリウム、50mM塩化マグネシウム)で

インキュベートし、暗箱中、室温で2日間染色した。

【0128】in situハイブリダイゼーションの結果、線条体及び嗅結節の神経細胞に強い発現が認められた。

【0129】

【発明の効果】本発明の新規PDE及びその遺伝子は、細胞内情報伝達の複合的なメカニズムの研究のために有用である。また、新たな疾患に対する治療薬の標的分子

となり得る。

【0130】また、本発明の新規PDE及びその遺伝子を利用した阻害剤の特徴付け、同定、及び選択方法は、選択性の高い阻害剤、治療効果が高く副作用の少ない優れた医薬を開発するために有用である。

【0131】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：4576

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：ヒト

配列の特徴

特徴を表す記号：CDS

存在位置：251..2590

配列：

```

GAATTCGGG CGGCGGCGGC CAAACTCCGC GGCCTCCCA GGGCGCCACG TTCGCCCTCG 60
CCGCGCGGC CGCCTGCTC TCGGCTCCG ACATGGAAGA TGGACCTTCT AATAATGCGA 120
GCTGCTCCG AAGGCTGACC GAGTCTTCC TGAGCCCCAA AGCTAATGGT ATAGATATAG 180
AAGTCATCCA CAGAGATGTT ACAGTTGAAG AGATGGGGGT AGAGAAGACT TTGAAGGAAA 240
AGAATGTAGA 250
ATG AGG ATA GAA GAG AGG AAA TCC CAA CAT TTA ACA GGT TTG ACA GAT 298
Met Arg Ile Glu Glu Arg Lys Ser Gln His Leu Thr Gly Leu Thr Asp
      1           5           10          15
GAA AAA GTG AAG GCA TAT CTT TCT CTT CAC CCC CAG GTA TTA GAT GAA 346
Glu Lys Val Lys Ala Tyr Leu Ser Leu His Pro Gln Val Leu Asp Glu
      20          25          30
TTT GTA TCT GAA AGT GTT AGT GCA GAG ACA GTA GAG AAA TGG CTG AAG 394
Phe Val Ser Glu Ser Val Ser Ala Glu Thr Val Glu Lys Trp Leu Lys
      35          40          45
AGG AAG AAC AAC AAA TCA GAA GAT GAA TCA GCT CCT AAG GAA GTC AGC 442
Arg Lys Asn Asn Lys Ser Glu Asp Glu Ser Ala Pro Lys Glu Val Ser
      50          55          60
AGG TAC CAA GAT ACG AAT ATG CAG GGA GTT GTA TAT GAA CTA AAC AGC 490
Arg Tyr Gln Asp Thr Asn Met Gln Gly Val Val Tyr Glu Leu Asn Ser
      65          70          75          80
TAT ATA GAA CAA CGG TTG GAC ACA GGA GGA GAC AAC CAG CTA CTC CTC 538
Tyr Ile Glu Gln Arg Leu Asp Thr Gly Gly Asp Asn Gln Leu Leu Leu
      85          90          95
TAT GAA CTG AGC AGC ATC ATT AAA ATA GCC ACA AAA GCC GAT GGA TTT 586
Tyr Glu Leu Ser Ser Ile Ile Lys Ile Ala Thr Lys Ala Asp Gly Phe
      100         105         110
GCA CTG TAT TTC CTT GGA GAG TGC AAT AAT AGC CTG TGT ATA TTC ACG 634
Ala Leu Tyr Phe Leu Gly Glu Cys Asn Asn Ser Leu Cys Ile Phe Thr
      115         120         125
CCA CCT GGG ATA AAG GAA GGA AAA CCC CGC CTC ATC CCT GCT GGG CCC 682
Pro Pro Gly Ile Lys Glu Gly Lys Pro Arg Leu Ile Pro Ala Gly Pro

```

130	135	140	
ATC ACT CAG GGC ACC ACC GTC TCT GCT TAT GTG GCC AAG TCC AGG AAA	730		
Ile Thr Gln Gly Thr Thr Val Ser Ala Tyr Val Ala Lys Ser Arg Lys			
145	150	155	160
ACA CTG CTA GTA GAA GAC ATC CTT GGA GAT GAA CGA TTT CCA AGA GGT	778		
Thr Leu Leu Val Glu Asp Ile Leu Gly Asp Glu Arg Phe Pro Arg Gly			
165	170	175	
ACT GGA CTG GAA TCA GGG ACT CGT ATC CAG TCT GTT CTT TGC TTA CCA	826		
Thr Gly Leu Glu Ser Gly Thr Arg Ile Gln Ser Val Leu Cys Leu Pro			
180	185	190	
ATT GTC ACT GCA ATT GGT GAC TTG ATT GGT ATT CTC GAG CTG TAT CGG	874		
Ile Val Thr Ala Ile Gly Asp Leu Ile Gly Ile Leu Glu Leu Tyr Arg			
195	200	205	
CAC TGG GGC AAA GAA GCC TTC TGT CTT AGT CAC CAG GAG GTT GCA ACA	922		
His Trp Gly Lys Glu Ala Phe Cys Leu Ser His Gln Glu Val Ala Thr			
210	215	220	
GCA AAT CTT GCC TGG GCT TCA GTA GCA ATA CAT CAG GTG CAG GTA TGC	970		
Ala Asn Leu Ala Trp Ala Ser Val Ala Ile His Gln Val Gln Val Cys			
225	230	235	240
AGA GGC CTT GCC AAA CAG ACA GAA TTG AAT GAC TTC CTA CTC GAC GTA	1018		
Arg Gly Leu Ala Lys Gln Thr Glu Leu Asn Asp Phe Leu Leu Asp Val			
245	250	255	
TCA AAA ACA TAT TTT GAT AAC ATA GTT GCA ATA GAT TCT CTA CTT GAA	1066		
Ser Lys Thr Tyr Phe Asp Asn Ile Val Ala Ile Asp Ser Leu Leu Glu			
260	265	270	
CAC ATA ATG ATA TAT GCA AAA AAC CTG GTG AAT GCC GAT CGT TGT GCG	1114		
His Ile Met Ile Tyr Ala Lys Asn Leu Val Asn Ala Asp Arg Cys Ala			
275	280	285	
CTT TTC CAG GTG GAC CAT AAG AAC AAG GAG TTA TAT TCA GAC CTT TTT	1162		
Leu Phe Gln Val Asp His Lys Asn Lys Glu Leu Tyr Ser Asp Leu Phe			
290	295	300	
GAT ATT GGA GAG GAA AAG GAA GGA AAA CCT GTC TTC AAG AAG ACC AAA	1210		
Asp Ile Gly Glu Glu Lys Glu Gly Lys Pro Val Phe Lys Lys Thr Lys			
305	310	315	320
GAG ATA AGA TTT TCA ATT GAG AAA GGA ATT GCT GGC CAA GTA GCA AGA	1258		
Glu Ile Arg Phe Ser Ile Glu Lys Gly Ile Ala Gly Gln Val Ala Arg			
325	330	335	
ACA GGG GAA GTC CTG AAC ATT CCA GAT GCC TAT GCA GAC CCA CGC TTT	1306		
Thr Gly Glu Val Leu Asn Ile Pro Asp Ala Tyr Ala Asp Pro Arg Phe			
340	345	350	
AAC AGA GAA GTA GAC TTG TAC ACA GGC TAC ACC ACG CGG AAC ATC CTG	1354		
Asn Arg Glu Val Asp Leu Tyr Thr Gly Tyr Thr Thr Arg Asn Ile Leu			
355	360	365	
TGC ATG CCC ATC GTC AGC CGA GGC AGC GTG ATA GGT GTG GTG CAG ATG	1402		
Cys Met Pro Ile Val Ser Arg Gly Ser Val Ile Gly Val Val Gln Met			
370	375	380	
GTC AAC AAA ATC AGT GGC AGT GCC TTC TCT AAA ACA GAT GAA AAC AAC	1450		
Val Asn Lys Ile Ser Gly Ser Ala Phe Ser Lys Thr Asp Glu Asn Asn			
385	390	395	400
TTC AAA ATG TTT GCC GTC TTT TGT GCT TTA GCC TTA CAC TGT GCT AAT	1498		

Phe Lys Met Phe Ala Val Phe Cys Ala Leu Ala Leu His Cys Ala Asn	
405 410 415	
ATG TAT CAT AGA ATT CGC CAC TCA GAG TGC ATT TAC CGG GTA ACG ATG	1546
Met Tyr His Arg Ile Arg His Ser Glu Cys Ile Tyr Arg Val Thr Met	
420 425 430	
GAA AAG CTG TCC TAC CAT AGC ATT TGT ACT TCA GAA GAG TGG CAA GGT	1594
Glu Lys Leu Ser Tyr His Ser Ile Cys Thr Ser Glu Glu Trp Gln Gly	
435 440 445	
CTC ATG CAA TTC ACC CTT CCC GTG CGT CTC TGC AAA GAA ATT GAA TTA	1642
Leu Met Gln Phe Thr Leu Pro Val Arg Leu Cys Lys Glu Ile Glu Leu	
450 455 460	
TTC CAC TTT GAC ATT GGT CCT TTT GAA AAC ATG TGG CCT GGA ATT TTT	1690
Phe His Phe Asp Ile Gly Pro Phe Glu Asn Met Trp Pro Gly Ile Phe	
465 470 475 480	
GTC TAC ATG GTT CAT CGG TCC TGT GGG ACA TCC TGC TTT GAG CTT GAA	1738
Val Tyr Met Val His Arg Ser Cys Gly Thr Ser Cys Phe Glu Leu Glu	
485 490 495	
AAG TTG TGT CGT TTT ATT ATG TCT GTG AAG AAG AAC TAT CGG CGG GTT	1786
Lys Leu Cys Arg Phe Ile Met Ser Val Lys Lys Asn Tyr Arg Arg Val	
500 505 510	
CCT TAT CAC AAC TGG AAG CAT GCG GTC ACT GTA GCA CAC TGC ATG TAT	1834
Pro Tyr His Asn Trp Lys His Ala Val Thr Val Ala His Cys Met Tyr	
515 520 525	
GCC ATA CTT CAG AAC AAT CAC ACG CTT TTC ACA GAC CTT GAG CGC AAA	1882
Ala Ile Leu Gln Asn Asn His Thr Leu Phe Thr Asp Leu Glu Arg Lys	
530 535 540	
GGA CTG CTG ATT GCG TGT CTG TGT CAT GAC CTG GAC CAC AGG GGC TTC	1930
Gly Leu Leu Ile Ala Cys Leu Cys His Asp Leu Asp His Arg Gly Phe	
545 550 555 560	
AGT AAC AGC TAC CTG CAG AAG TTC GAC CAC CCT CTG GCC GCT CTC TAC	1978
Ser Asn Ser Tyr Leu Gln Lys Phe Asp His Pro Leu Ala Ala Leu Tyr	
565 570 575	
TCC ACT TCC ACC ATG GAG CAG CAC CAC TTC TCC CAG ACT GTG TCC ATC	2026
Ser Thr Ser Thr Met Glu Gln His His Phe Ser Gln Thr Val Ser Ile	
580 585 590	
CTT CAG TTG GAA GGG CAC AAT ATC TTC TCC ACT CTG AGC TCC AGT GAA	2074
Leu Gln Leu Glu Gly His Asn Ile Phe Ser Thr Leu Ser Ser Ser Glu	
595 600 605	
TAT GAG CAG GTG CTT GAG ATC ATC CGC AAA GCC ATC ATT GCC ACA GAC	2122
Tyr Glu Gln Val Leu Glu Ile Ile Arg Lys Ala Ile Ile Ala Thr Asp	
610 615 620	
CTT GCT TTA TAC TTT GGA AAC AGG AAG CAG TTG GAA GAG ATG TAC CAG	2170
Leu Ala Leu Tyr Phe Gly Asn Arg Lys Gln Leu Glu Glu Met Tyr Gln	
625 630 635 640	
ACC GGA TCA CTA AAC CTT AAT AAT CAA TCA CAT AGA GAC CGT GTA ATT	2218
Thr Gly Ser Leu Asn Leu Asn Asn Gln Ser His Arg Asp Arg Val Ile	
645 650 655	
GGT TTG ATG ATG ACT GCC TGT GAC CTT TGT TCT GTG ACA AAA CTG TGG	2266
Gly Leu Met Met Thr Ala Cys Asp Leu Cys Ser Val Thr Lys Leu Trp	
660 665 670	

CCC GTT ACA AAA TTG ACG GCA AAT GAT ATA TAT GCA GAA TTC TGG GCT 2314
 Pro Val Thr Lys Leu Thr Ala Asn Asp Ile Tyr Ala Glu Phe Trp Ala
 675 680 685
 GAG GGT GAT GAA ATG AAG AAA TTG GGA ATA CAG CCT ATT CCT ATG ATG 2362
 Glu Gly Asp Glu Met Lys Lys Leu Gly Ile Gln Pro Ile Pro Met Met
 690 695 700
 GAC AGA GAC AAG AAG GAT GAA GTC CCC CAA GGC CAG CTT GGG TTC TAC 2410
 Asp Arg Asp Lys Lys Asp Glu Val Pro Gln Gly Gln Leu Gly Phe Tyr
 705 710 715 720
 AAT GCC GTG GCC ATT CCC TGC TAT ACA ACC CTT ACC CAG ATC CTC CCT 2458
 Asn Ala Val Ala Ile Pro Cys Tyr Thr Thr Leu Thr Gln Ile Leu Pro
 725 730 735
 CCC ACG GAG CCT CTT CTG AAA GCA TGC AGG GAT AAT CTC AGT CAG TGG 2506
 Pro Thr Glu Pro Leu Leu Lys Ala Cys Arg Asp Asn Leu Ser Gln Trp
 740 745 750
 GAG AAG GTG ATT CGA GGG GAG GAG ACT GCA ACC TGG ATT TCA TCC CCA 2554
 Glu Lys Val Ile Arg Gly Glu Glu Thr Ala Thr Trp Ile Ser Ser Pro
 755 760 765
 TCC GTG GCT CAG AAG GCA GCT GCA TCT GAA GAT TGA 2590
 Ser Val Ala Gln Lys Ala Ala Ala Ser Glu Asp
 770 775 779
 GCACTGGTCA CCCTGACACG CTGTCCACC TACAGATCCT CATCTTGCTT CTTTGACATT 2650
 CTTTTCCTTT TTTTGGGGG GGTGGGGGA ACCTGCACCT GGTAAC TGG GTGCAACCT 2710
 CTTCAAGAAG GTAACATCAA ATAAATAAGT CAAGCAGAGG ACTTCCTGCC AATCTCTTCT 2770
 GTGAGGCATC ATAGACACTG AGCAACCAGG ACCACCCCA CGTTCAGAAA TCAGCTGGCC 2830
 AAGTGACTCC ATTTGACTTG CAAACCAGCC TTTTCTAATA GGCTAATATT GCTGAGGCCT 2890
 TAAAGGAAAT GGACAAAAAT TATCCAGAAG GGGTACTTTT CCATTGTATC TTTCTAATAA 2950
 GGGTTTAAAA TGGTACTATT ATGGTATTGT ACTTGGGCTT TAACATCAAT GTTGCTTTGA 3010
 TGTGTGTGGA TATAAATAGG AATTTTACAC ATTACTATTG TGAATGGTGA ATGTTTCATG 3070
 ATGACCTACT TGTAATTAAC TTGAGTTGTA GTCCACAGCC TCAGGACAAA TGTGTTGAG 3130
 GTTACAGAGT AAGAAATGAT GGCAAAACGT CAAACTCTTA TTTAGAGCT TCATGAATTT 3190
 AGTTAGACTA AACATAATTC TTTAAGTTCA ACCTAAAGGG CTGAGATCAA TAAATTTAAC 3250
 ACTAGACGAA GTAGACTTCC TGTCTTTTGG AGAAGAGATG AGGTATATGT TACAATAAAT 3310
 CTCAGAACTT CAAGTAGCAG TTCAAAAGAT GTCAGTTTTT AAAATTGTTT TTGTTGTTGT 3370
 CTTGGCAGTT TTA CTGAACC CTTTGCATAA AGAACAAAAT AAAAGCTCGG CATTGTAATT 3430
 TTTTAAATGG ACAAGTCTTA TGGATACGAG GGGTACATTT TTCATAATGA TTCCTTTATA 3490
 TTTTCACTTT GTGTCATATG CAGAATTTTA GACTCTCATT CACAATGAAA AGTTTATTTT 3550
 AAACATTGTT TAATTTAAAT ACCATACAGT TCTCTTTTAA ACATCAAACC ATAAAAAGTG 3610
 TATTTTGTAA TTTTACTCTG ACCTGCCGCA GTCACCTCTC ACTTATCTCT TCCAOGTACT 3670
 GCACGGTCGT ATTTATGAG CTTTCTGTCC ATAGCACAGA AACAGAGCAG AAAGTAGTAC 3730
 AATCATGTTG GACCTTCTTT CTGTTCTCTT TACTCTTCTC ACAGATCAGA TCACTCCATA 3790
 GAAGCCTGTG GGTTOGATG GTTCTTCTA TACACCTTTT TGGTTGACCA GTATTACTAT 3850
 ACAATGTAAG TGTTTTAAAA AATAAGAAAG TAATACTCTG CACCCCTTCC TACAAAGATG 3910
 ATAAAGCAGT CACTTCTGGC GCATTTTAAT AATTTAAAGA TTTTATGTC AATGGCACGG 3970
 TAACCTCCAA ACCTGAATTA GACAGAGACT CACTCAGGAA GTGACAGGCC CATCATATCA 4030
 AATAACTTAT TCACTTTTCA TGTGGCAGGA AACTGGAATA TCGCTTTTAA TAAATGGAA 4090
 AAATATGCTT CTACATATTT ACCACCATAG GCGTTTGTG CATATGAGCC TGGTTGTGTC 4150
 AAAATTAAT CAGAGGCTTC TACAACATGG TTTATTTATG TTGTAGCAAA GTTGGCTCTA 4210
 CATAACATT GTTCTATTT TAAATTAAC ACTATGTGTT CAGTTTCTT GTGGGCTTCT 4270
 GAAAGTTGCC ATCTCCCTC CGTGAGCTC CATTTGCTAT TTTCAATATA CACTATGAGG 4330

TAAATGTAA TAACAAAAGA GAGAGAAGTA CCACTGTGGC TAGATATATA CACACACATA 4390
 TATATATGGA TGGATGTAAT ATATGTAGCA CACACACATA GATGTATATA GGATACACAC 4450
 TCATGTATGT AAACGTATAC ATATGTGTAT ATATGATACA TACACATACA CACACACGAG 4510
 AGACAGAAGG AAAGAGAGGA AGAGAGAAGC AAACATGTAG GAAAAATAT AAATCAGCCG 4570
 GAATTC 4576.

【0132】

配列番号：2

配列の長さ：2406

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：ヒト

配列の特徴

特徴を表す記号：CDS

存在位置：15..2384

配列：

TCTTCGGCTC CGAC 14
 ATG GAA GAT GGA CCT TCT AAT AAT GCG AGC TGC TTC CGA AGG CTG ACC 62
 Met Glu Asp Gly Pro Ser Asn Asn Ala Ser Cys Phe Arg Arg Leu Thr
 1 5 10 15
 GAG TGC TTC CTG AGC CCC AGT TTG ACA GAT GAA AAA GTG AAG GCA TAT 110
 Glu Cys Phe Leu Ser Pro Ser Leu Thr Asp Glu Lys Val Lys Ala Tyr
 20 25 30
 CTT TCT CTT CAC CCC CAG GTA TTA GAT GAA TTT GTA TCT GAA AGT GTT 158
 Leu Ser Leu His Pro Gln Val Leu Asp Glu Phe Val Ser Glu Ser Val
 35 40 45
 AGT GCA GAG ACA GTA GAG AAA TGG CTG AAG AGG AAG AAC AAC AAA TCA 206
 Ser Ala Glu Thr Val Glu Lys Trp Leu Lys Arg Lys Asn Asn Lys Ser
 50 55 60
 GAA GAT GAA TCA GCT CCT AAG GAA GTC AGC AGG TAC CAA GAT ACG AAT 254
 Glu Asp Glu Ser Ala Pro Lys Glu Val Ser Arg Tyr Gln Asp Thr Asn
 65 70 75 80
 ATG CAG GGA GTT GTA TAT GAA CTA AAC AGC TAT ATA GAA CAA CGG TTG 302
 Met Gln Gly Val Val Tyr Glu Leu Asn Ser Tyr Ile Glu Gln Arg Leu
 85 90 95
 GAC ACA GGA GGA GAC AAC CAG CTA CTC CTC TAT GAA CTG AGC AGC ATC 350
 Asp Thr Gly Gly Asp Asn Gln Leu Leu Leu Tyr Glu Leu Ser Ser Ile
 100 105 110
 ATT AAA ATA GCC ACA AAA GCC GAT GGA TTT GCA CTG TAT TTC CTT GGA 398
 Ile Lys Ile Ala Thr Lys Ala Asp Gly Phe Ala Leu Tyr Phe Leu Gly
 115 120 125
 GAG TGC AAT AAT AGC CTG TGT ATA TTC ACG CCA CCT GGG ATA AAG GAA 446
 Glu Cys Asn Asn Ser Leu Cys Ile Phe Thr Pro Pro Gly Ile Lys Glu
 130 135 140
 GGA AAA CCC CGC CTC ATC CCT GCT GGG CCC ATC ACT CAG GGC ACC ACC 494
 Gly Lys Pro Arg Leu Ile Pro Ala Gly Pro Ile Thr Gln Gly Thr Thr
 145 150 155 160
 GTC TCT GCT TAT GTG GCC AAG TCC AGG AAA ACA CTG CTA GTA GAA GAC 542

Val	Ser	Ala	Tyr	Val	Ala	Lys	Ser	Arg	Lys	Thr	Leu	Leu	Val	Glu	Asp		
				165					170					175			
ATC	CTT	GGA	GAT	GAA	CGA	TTT	CCA	AGA	GGT	ACT	GGA	CTG	GAA	TCA	GGG	590	
Ile	Leu	Gly	Asp	Glu	Arg	Phe	Pro	Arg	Gly	Thr	Gly	Leu	Glu	Ser	Gly		
				180				185						190			
ACT	CGT	ATC	CAG	TCT	GTT	CTT	TGC	TTA	CCA	ATT	GTC	ACT	GCA	ATT	GGT	638	
Thr	Arg	Ile	Gln	Ser	Val	Leu	Cys	Leu	Pro	Ile	Val	Thr	Ala	Ile	Gly		
				195				200						205			
GAC	TTG	ATT	GGT	ATT	CTC	GAG	CTG	TAT	CGG	CAC	TGG	GGC	AAA	GAA	GCC	686	
Asp	Leu	Ile	Gly	Ile	Leu	Glu	Leu	Tyr	Arg	His	Trp	Gly	Lys	Glu	Ala		
				210				215						220			
TTC	TGT	CTT	AGT	CAC	CAG	GAG	GTT	GCA	ACA	GCA	AAT	CTT	GCC	TGG	GCT	734	
Phe	Cys	Leu	Ser	His	Gln	Glu	Val	Ala	Thr	Ala	Asn	Leu	Ala	Trp	Ala		
				225				230						235		240	
TCA	GTA	GCA	ATA	CAT	CAG	GTG	CAG	GTA	TGC	AGA	GGC	CTT	GCC	AAA	CAG	782	
Ser	Val	Ala	Ile	His	Gln	Val	Gln	Val	Cys	Arg	Gly	Leu	Ala	Lys	Gln		
				245					250					255			
ACA	GAA	TTG	AAT	GAC	TTC	CTA	CTC	GAC	GTA	TCA	AAA	ACA	TAT	TTT	GAT	830	
Thr	Glu	Leu	Asn	Asp	Phe	Leu	Leu	Asp	Val	Ser	Lys	Thr	Tyr	Phe	Asp		
				260				265						270			
AAC	ATA	GTT	GCA	ATA	GAT	TCT	CTA	CTT	GAA	CAC	ATA	ATG	ATA	TAT	GCA	878	
Asn	Ile	Val	Ala	Ile	Asp	Ser	Leu	Leu	Glu	His	Ile	Met	Ile	Tyr	Ala		
				275				280						285			
AAA	AAC	CTG	GTG	AAT	GCC	GAT	CGT	TGT	GCG	CTT	TTC	CAG	GTG	GAC	CAT	926	
Lys	Asn	Leu	Val	Asn	Ala	Asp	Arg	Cys	Ala	Leu	Phe	Gln	Val	Asp	His		
				290				295						300			
AAG	AAC	AAG	GAG	TTA	TAT	TCA	GAC	CTT	TTT	GAT	ATT	GGA	GAG	GAA	AAG	974	
Lys	Asn	Lys	Glu	Leu	Tyr	Ser	Asp	Leu	Phe	Asp	Ile	Gly	Glu	Glu	Lys		
				305				310						315		320	
GAA	GGA	AAA	CCT	GTC	TTC	AAG	AAG	ACC	AAA	GAG	ATA	AGA	TTT	TCA	ATT	1022	
Glu	Gly	Lys	Pro	Val	Phe	Lys	Lys	Thr	Lys	Glu	Ile	Arg	Phe	Ser	Ile		
				325					330					335			
GAG	AAA	GGA	ATT	GCT	GGC	CAA	GTA	GCA	AGA	ACA	GGG	GAA	GTC	CTG	AAC	1070	
Glu	Lys	Gly	Ile	Ala	Gly	Gln	Val	Ala	Arg	Thr	Gly	Glu	Val	Leu	Asn		
				340					345					350			
ATT	CCA	GAT	GCC	TAT	GCA	GAC	CCA	CGC	TTT	AAC	AGA	GAA	GTA	GAC	TTG	1118	
Ile	Pro	Asp	Ala	Tyr	Ala	Asp	Pro	Arg	Phe	Asn	Arg	Glu	Val	Asp	Leu		
				355				360						365			
TAC	ACA	GGC	TAC	ACC	ACG	GGG	AAC	ATC	CTG	TGC	ATG	CCC	ATC	GTC	AGC	1166	
Tyr	Thr	Gly	Tyr	Thr	Thr	Arg	Asn	Ile	Leu	Cys	Met	Pro	Ile	Val	Ser		
				370				375						380			
CGA	GGC	AGC	GTG	ATA	GGT	GTG	GTG	CAG	ATG	GTC	AAC	AAA	ATC	AGT	GGC	1214	
Arg	Gly	Ser	Val	Ile	Gly	Val	Val	Gln	Met	Val	Asn	Lys	Ile	Ser	Gly		
				385				390						395		400	
AGT	GCC	TTC	TCT	AAA	ACA	GAT	GAA	AAC	AAC	TTC	AAA	ATG	TTT	GCC	GTC	1262	
Ser	Ala	Phe	Ser	Lys	Thr	Asp	Glu	Asn	Asn	Phe	Lys	Met	Phe	Ala	Val		
				405					410					415			
TTT	TGT	GCT	TTA	GCC	TTA	CAC	TGT	GCT	AAT	ATG	TAT	CAT	AGA	ATT	CGC	1310	
Phe	Cys	Ala	Leu	Ala	Leu	His	Cys	Ala	Asn	Met	Tyr	His	Arg	Ile	Arg		
				420					425					430			

CAC TCA GAG TGC ATT TAC CGG GTA ACG ATG GAA AAG CTG TCC TAC CAT 1358
His Ser Glu Cys Ile Tyr Arg Val Thr Met Glu Lys Leu Ser Tyr His
435 440 445
AGC ATT TGT ACT TCA GAA GAG TGG CAA GGT CTC ATG CAA TTC ACC CTT 1406
Ser Ile Cys Thr Ser Glu Glu Trp Gln Gly Leu Met Gln Phe Thr Leu
450 455 460
CCC GTG CGT CTC TGC AAA GAA ATT GAA TTA TTC CAC TTT GAC ATT GGT 1454
Pro Val Arg Leu Cys Lys Glu Ile Glu Leu Phe His Phe Asp Ile Gly
465 470 475 480
CCT TTT GAA AAC ATG TGG CCT GGA ATT TTT GTC TAC ATG GTT CAT CGG 1502
Pro Phe Glu Asn Met Trp Pro Gly Ile Phe Val Tyr Met Val His Arg
485 490 495
TCC TGT GGG ACA TCC TGC TTT GAG CTT GAA AAG TTG TGT CGT TTT ATT 1550
Ser Cys Gly Thr Ser Cys Phe Glu Leu Glu Lys Leu Cys Arg Phe Ile
500 505 510
ATG TCT GTG AAG AAG AAC TAT CGG CGG GTT CCT TAT CAC AAC TGG AAG 1598
Met Ser Val Lys Lys Asn Tyr Arg Arg Val Pro Tyr His Asn Trp Lys
515 520 525
CAT GCG GTC ACT GTA GCA CAC TGC ATG TAT GCC ATA CTT CAG AAC AAT 1646
His Ala Val Thr Val Ala His Cys Met Tyr Ala Ile Leu Gln Asn Asn
530 535 540
CAC ACG CTT TTC ACA GAC CTT GAG CGC AAA GGA CTG CTG ATT GCG TGT 1694
His Thr Leu Phe Thr Asp Leu Glu Arg Lys Gly Leu Leu Ile Ala Cys
545 550 555 560
CTG TGT CAT GAC CTG GAC CAC AGG GGC TTC AGT AAC AGC TAC CTG CAG 1742
Leu Cys His Asp Leu Asp His Arg Gly Phe Ser Asn Ser Tyr Leu Gln
565 570 575
AAG TTC GAC CAC CCT CTG GCC GCT CTC TAC TCC ACT TCC ACC ATG GAG 1790
Lys Phe Asp His Pro Leu Ala Ala Leu Tyr Ser Thr Ser Thr Met Glu
580 585 590
CAG CAC CAC TTC TCC CAG ACT GTG TCC ATC CTT CAG TTG GAA GGG CAC 1838
Gln His His Phe Ser Gln Thr Val Ser Ile Leu Gln Leu Glu Gly His
595 600 605
AAT ATC TTC TCC ACT CTG AGC TCC AGT GAA TAT GAG CAG GTG CTT GAG 1886
Asn Ile Phe Ser Thr Leu Ser Ser Ser Glu Tyr Glu Gln Val Leu Glu
610 615 620
ATC ATC CGC AAA GCC ATC ATT GCC ACA GAC CTT GCT TTA TAC TTT GGA 1934
Ile Ile Arg Lys Ala Ile Ile Ala Thr Asp Leu Ala Leu Tyr Phe Gly
625 630 635 640
AAC AGG AAG CAG TTG GAA GAG ATG TAC CAG ACC GGA TCA CTA AAC CTT 1982
Asn Arg Lys Gln Leu Glu Glu Met Tyr Gln Thr Gly Ser Leu Asn Leu
645 650 655
AAT AAT CAA TCA CAT AGA GAC CGT GTA ATT GGT TTG ATG ATG ACT GCC 2030
Asn Asn Gln Ser His Arg Asp Arg Val Ile Gly Leu Met Met Thr Ala
660 665 670
TGT GAC CTT TGT TCT GTG ACA AAA CTG TGG CCC GTT ACA AAA TTG ACG 2078
Cys Asp Leu Cys Ser Val Thr Lys Leu Trp Pro Val Thr Lys Leu Thr
675 680 685
GCA AAT GAT ATA TAT GCA GAA TTC TGG GCT GAG GGT GAT GAA ATG AAG 2126
Ala Asn Asp Ile Tyr Ala Glu Phe Trp Ala Glu Gly Asp Glu Met Lys

```

690          695          700
AAA TTG GGA ATA CAG CCT ATT CCT ATG ATG GAC AGA GAC AAG AAG GAT 2174
Lys Leu Gly Ile Gln Pro Ile Pro Met Met Asp Arg Asp Lys Lys Asp
705          710          715          720
GAA GTC CCC CAA GGC CAG CTT GGG TTC TAC AAT GCC GTG GCC ATT CCC 2222
Glu Val Pro Gln Gly Gln Leu Gly Phe Tyr Asn Ala Val Ala Ile Pro
725          730          735
TGC TAT ACA ACC CTT ACC CAG ATC CTC CCT CCC ACG GAG CCT CTT CTG 2270
Cys Tyr Thr Thr Leu Thr Gln Ile Leu Pro Pro Thr Glu Pro Leu Leu
740          745          750
AAA GCA TGC AGG GAT AAT CTC AGT CAG TGG GAG AAG GTG ATT CGA GGG 2318
Lys Ala Cys Arg Asp Asn Leu Ser Gln Trp Glu Lys Val Ile Arg Gly
755          760          765
GAG GAG ACT GCA ACC TGG ATT TCA TCC CCA TCC GTG GCT CAG AAG GCA 2366
Glu Glu Thr Ala Thr Trp Ile Ser Ser Pro Ser Val Ala Gln Lys Ala
770          775          780
GCT GCA TCT GAA GAT TGA
Ala Ala Ser Glu Asp
785          789
GCACTGGTCA CCCTGACAGC CT
2384
2406.

```

【0133】配列番号：3

配列の長さ：18

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成プライマー）

配列：

AAGCTGTCCT ACCATAGC 18

。

【0134】配列番号：4

配列の長さ：18

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成プライマー）

配列：

GGCTGCGGCC AGAGGGTG 18

。

【0135】配列番号：5

配列の長さ：18

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成プライマー）

配列：

ACTTTCAGAA GAGTGGCC 18.

【0136】配列番号：6

配列の長さ：18

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成プライマー）

配列：

TGCAGGTAAC TGTTACTG 18

。

【0137】配列番号：7

配列の長さ：18

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成プライマー）

配列：

CGCTGCTCTT CGGCTCCG 18

。

【0138】配列番号：8

配列の長さ：21

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成プライマー）

配列：

GGATCTGTAG GTGGGACAGC G 21

。

【0139】配列番号：9

配列の長さ：31

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成プライマー）

配列：

GGGAATTCAT GAGGATAGAA GAGAGGAAAT C 31

【0140】配列番号: 10

配列の長さ: 22

配列の型: 核酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: 他の核酸 (合成プライマー)

配列:

AGCGTGTCTAG GGTGACCAGT GC 22

【0141】配列番号: 11

配列の長さ: 18

配列の型: 核酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: 他の核酸 (合成プライマー)

配列:

CGCTGCTCTT CGGCTCCG 18

【0142】配列番号: 12

配列の長さ: 21

配列の型: 核酸

鎖の数: 一本鎖

配列番号: 15

配列の長さ: 3427

配列の型: 核酸

鎖の数: 二本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: cDNA to mRNA

起源

生物名: ラット

配列の特徴

特徴を表す記号: CDS

存在位置: 281..2665

配列:

GAATTCGGCA CGAGGCAGCG GCGGGCGGCG GCGGCTCTTC CTTCGCCTG CGATCCAAGG 60
 CTTGCTGCTC CCAGCCCGCT CCGGGCCCCG GCCACCTCCA CCGCCGCGGC TCCCCTTACA 120
 CCCGGGCGCA CACCGGCGG ACTCCTTGGG TTTTCCGGGT GCGGGCGGGG GCTGCCCTGG 180
 CCTCGGCCCC GGCTCTGCGG CCGGTGGCCG AACTCCGTGG CCGCCCCGAG GCACGCGCCT 240
 CCCCCTTGCC ACTGCCTGGC CGCTGCTCTT CGGCTCCGAC 280
 ATG GAA GAT GGA CCC TCT AAC AAT GCG AGT TGC TTC CGA AGG CTG ACC 328
 Met Glu Asp Gly Pro Ser Asn Asn Ala Ser Cys Phe Arg Arg Leu Thr
 1 5 10 15
 GAG TGT TTC CTC AGC CCC AGT TTG ACG GAT GAA AAG GTG AAG GCC TAT 376
 Glu Cys Phe Leu Ser Pro Ser Leu Thr Asp Glu Lys Val Lys Ala Tyr
 20 25 30
 CTT TCC CTC CAT CCC CAG GTA TTA GAC GAG TTT GTT TCT GAA AGT GTT 424
 Leu Ser Leu His Pro Gln Val Leu Asp Glu Phe Val Ser Glu Ser Val

35

40

45

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: 他の核酸 (合成プライマー)

配列:

GGATCTGTAG GTGGGACAGC G 21

【0143】配列番号: 13

配列の長さ: 18

配列の型: 核酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: 他の核酸 (合成プライマー)

配列:

TCTTCGGCTC CGACATGG 18

【0144】配列番号: 14

配列の長さ: 22

配列の型: 核酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: 他の核酸 (合成プライマー)

配列:

AGCGTGTCTAG GGTGACCAGT GC 22

【0145】

AGT GCG GAG ACT GTG GAG AAG TGG CTG AAG AGG AAA AAC AAC AAA GCA	472
Ser Ala Glu Thr Val Glu Lys Trp Leu Lys Arg Lys Asn Asn Lys Ala	
50 55 60	
GAA GAT GAA CCA TCT CCT AAG GAA GTC AGC AGG TAC CAG GAC ACG AAC	520
Glu Asp Glu Pro Ser Pro Lys Glu Val Ser Arg Tyr Gln Asp Thr Asn	
65 70 75 80	
ATG CAG GGA GTC GTG TAC GAG CTG AAC AGC TAC ATA GAG CAG CGC CTG	568
Met Gln Gly Val Val Tyr Glu Leu Asn Ser Tyr Ile Glu Gln Arg Leu	
85 90 95	
GAC ACC GGC GGG GAC AAC CAC CTG CTC CTG TAC GAG CTA AGC AGT ATC	616
Asp Thr Gly Gly Asp Asn His Leu Leu Leu Tyr Glu Leu Ser Ser Ile	
100 105 110	
ATC AGG ATA GCC ACA AAA GCC GAC GGA TTT GCA CTG TAC TTC CTT GGA	664
Ile Arg Ile Ala Thr Lys Ala Asp Gly Phe Ala Leu Tyr Phe Leu Gly	
115 120 125	
GAG TGC AAT AAT AGT CTG TGT GTC TTC ACA CCA CCC GGA ATG AAG GAA	712
Glu Cys Asn Asn Ser Leu Cys Val Phe Thr Pro Pro Gly Met Lys Glu	
130 135 140	
GGT CAA CCC CGT CTC ATC CCC GCA GGG CCC ATC ACC CAG GGC ACC ACC	760
Gly Gln Pro Arg Leu Ile Pro Ala Gly Pro Ile Thr Gln Gly Thr Thr	
145 150 155 160	
ATC TCT GCC TAT GTG GCC AAG TCT AGG AAG ACC CTG CTG GTA GAG GAC	808
Ile Ser Ala Tyr Val Ala Lys Ser Arg Lys Thr Leu Leu Val Glu Asp	
165 170 175	
ATC CTT GGG GAT GAG CGA TTT CCC AGA GGC ACT GGT CTG GAG TCA GGA	856
Ile Leu Gly Asp Glu Arg Phe Pro Arg Gly Thr Gly Leu Glu Ser Gly	
180 185 190	
ACC CGA ATC CAG TCT GTC CTT TGC TTG CCT ATT GTC ACT GCC ATT GGA	904
Thr Arg Ile Gln Ser Val Leu Cys Leu Pro Ile Val Thr Ala Ile Gly	
195 200 205	
GAC TTG ATT GGC ATC CTT GAA CTG TAC AGG CAC TGG GGC AAA GAG GCC	952
Asp Leu Ile Gly Ile Leu Glu Leu Tyr Arg His Trp Gly Lys Glu Ala	
210 215 220	
TTC TGC CTC AGC CAT CAG GAG GTT GCA ACC GCC AAT CTC GCT TGG GCT	1000
Phe Cys Leu Ser His Gln Glu Val Ala Thr Ala Asn Leu Ala Trp Ala	
225 230 235 240	
TCC GTA GCA ATA CAC CAG GTG CAG GTG TGC AGA GGT CTC GCC AAG CAG	1048
Ser Val Ala Ile His Gln Val Gln Val Cys Arg Gly Leu Ala Lys Gln	
245 250 255	
ACC GAA CTG AAT GAC TTC CTG CTC GAT GTA TCA AAG ACA TAC TTT GAT	1096
Thr Glu Leu Asn Asp Phe Leu Leu Asp Val Ser Lys Thr Tyr Phe Asp	
260 265 270	
AAC ATA GTC GCC ATA GAC TCT CTA CTT GAA CAC ATC ATG ATA TAT GCA	1144
Asn Ile Val Ala Ile Asp Ser Leu Leu Glu His Ile Met Ile Tyr Ala	
275 280 285	
AAA AAT CTA GTG AAC GCC GAC CGC TGC GCG CTC TTC CAG GTG GAC CAC	1192
Lys Asn Leu Val Asn Ala Asp Arg Cys Ala Leu Phe Gln Val Asp His	
290 295 300	
AAG AAC AAG GAG CTG TAC TCG GAC CTG TTT GAC ATT GGG GAG GAG AAG	1240
Lys Asn Lys Glu Leu Tyr Ser Asp Leu Phe Asp Ile Gly Glu Glu Lys	

305	310	315	320	
GAG GGG AAG CCC GTC TTC AAG AAG ACC AAG GAG ATC AGA TTT TCC ATT				1288
Glu Gly Lys Pro Val Phe Lys Lys Thr Lys Glu Ile Arg Phe Ser Ile				
	325	330	335	
GAG AAA GGG ATT GCT GGT CAA GTG GCA AGA ACG GGA GAA GTC CTG AAC				1336
Glu Lys Gly Ile Ala Gly Gln Val Ala Arg Thr Gly Glu Val Leu Asn				
	340	345	350	
ATT CCT GAT GCC TAC GCA GAC CCG CGC TTT AAC AGG GAG GTG GAC CTG				1384
Ile Pro Asp Ala Tyr Ala Asp Pro Arg Phe Asn Arg Glu Val Asp Leu				
	355	360	365	
TAC ACA GGC TAT ACC ACG CGG AAC ATT CTG TGT ATG CCC ATA GTG AGC				1432
Tyr Thr Gly Tyr Thr Thr Arg Asn Ile Leu Cys Met Pro Ile Val Ser				
	370	375	380	
CGC GGC AGC GTG ATC GGT GTG GTG CAA ATG GTT AAC AAG ATC AGC GGC				1480
Arg Gly Ser Val Ile Gly Val Val Gln Met Val Asn Lys Ile Ser Gly				
	385	390	395	400
AGC GCC TTC TCC AAG ACG GAT GAG AAC AAC TTC AAG ATG TTT GCT GTC				1528
Ser Ala Phe Ser Lys Thr Asp Glu Asn Asn Phe Lys Met Phe Ala Val				
	405	410	415	
TTC TGC GCT CTG GCC CTG CAC TGC GCT AAC ATG TAC CAC AGG ATC CGC				1576
Phe Cys Ala Leu Ala Leu His Cys Ala Asn Met Tyr His Arg Ile Arg				
	420	425	430	
CAC TCA GAG TGC ATC TAC AGG GTT ACC ATG GAG AAG CTG TCT TAC CAC				1624
His Ser Glu Cys Ile Tyr Arg Val Thr Met Glu Lys Leu Ser Tyr His				
	435	440	445	
AGC ATC TGC ACC TCT GAG GAA TGG CAA GGC CTC ATG CAC TTC AAC TTG				1672
Ser Ile Cys Thr Ser Glu Glu Trp Gln Gly Leu Met His Phe Asn Leu				
	450	455	460	
CCA GCA CGC ATC TGC CGG GAC ATC GAG CTA TTC CAC TTT GAC ATT GGT				1720
Pro Ala Arg Ile Cys Arg Asp Ile Glu Leu Phe His Phe Asp Ile Gly				
	465	470	475	480
CCT TTC GAG AAC ATG TGG CCT GGG ATC TTT GTC TAC ATG ATC CAT CGG				1768
Pro Phe Glu Asn Met Trp Pro Gly Ile Phe Val Tyr Met Ile His Arg				
	485	490	495	
TCT TGT GGG ACA TCC TGT TTT GAA CTT GAA AAA TTG TGC CGT TTT ATC				1816
Ser Cys Gly Thr Ser Cys Phe Glu Leu Glu Lys Leu Cys Arg Phe Ile				
	500	505	510	
ATG TCT GTG AAG AAG AAC TAT AGG CGG GTT CCT TAC CAC AAC TGG AAG				1864
Met Ser Val Lys Lys Asn Tyr Arg Arg Val Pro Tyr His Asn Trp Lys				
	515	520	525	
CAT GCA GTC ACG GTG GCG CAC TGC ATG TAC GCC ATA CTT CAA AAC AAC				1912
His Ala Val Thr Val Ala His Cys Met Tyr Ala Ile Leu Gln Asn Asn				
	530	535	540	
AAT GGC CTC TTC ACA GAC CTT GAG CGC AAA GGC CTG CTA ATT GCC TGT				1960
Asn Gly Leu Phe Thr Asp Leu Glu Arg Lys Gly Leu Leu Ile Ala Cys				
	545	550	555	560
CTG TGC CAT GAC CTG GAC CAC AGG GGC TTC AGT AAC AGC TAC CTG CAG				2008
Leu Cys His Asp Leu Asp His Arg Gly Phe Ser Asn Ser Tyr Leu Gln				
	565	570	575	
AAA TTC GAC CAC CCC CTG GCT GCG TTG TAC TCC ACC TCC ACC ATG GAG				2056

Lys Phe Asp His Pro Leu Ala Ala Leu Tyr Ser Thr Ser Thr Met Glu
 580 585 590
 CAA CAC CAC TTC TCC CAG ACG GTG TCC ATC CTC CAG CTG GAA GGA CAC 2104
 Gln His His Phe Ser Gln Thr Val Ser Ile Leu Gln Leu Glu Gly His
 595 600 605
 AAC ATC TTC TCC ACC CTG AGC TCC AGC GAG TAC GAG CAG GTG CTG GAG 2152
 Asn Ile Phe Ser Thr Leu Ser Ser Ser Glu Tyr Glu Gln Val Leu Glu
 610 615 620
 ATC ATC CGC AAA GCC ATC ATC GCC ACT GAC CTC GCA CTG TAC TTT GGG 2200
 Ile Ile Arg Lys Ala Ile Ile Ala Thr Asp Leu Ala Leu Tyr Phe Gly
 625 630 635 640
 AAC AGG AAG CAG TTG GAG GAG ATG TAC CAG ACA GGG TCG CTG AAC CTC 2248
 Asn Arg Lys Gln Leu Glu Glu Met Tyr Gln Thr Gly Ser Leu Asn Leu
 645 650 655
 CAC AAC CAG TCC CAT CGA GAC CGC GTC ATC GGC TTG ATG ATG ACT GCC 2296
 His Asn Gln Ser His Arg Asp Arg Val Ile Gly Leu Met Met Thr Ala
 660 665 670
 TGC GAT CTT TGC TCT GTG ACG AAA CTA TGG CCA GTT ACA AAA TTG ACA 2344
 Cys Asp Leu Cys Ser Val Thr Lys Leu Trp Pro Val Thr Lys Leu Thr
 675 680 685
 GCA AAT GAT ATA TAT GCA GAG TTC TGG GCT GAG GGG GAT GAG ATG AAG 2392
 Ala Asn Asp Ile Tyr Ala Glu Phe Trp Ala Glu Gly Asp Glu Met Lys
 690 695 700
 AAG TTG GGG ATA CAG CCC ATC CCT ATG ATG GAC AGA GAC AAG CGA GAT 2440
 Lys Leu Gly Ile Gln Pro Ile Pro Met Met Asp Arg Asp Lys Arg Asp
 705 710 715 720
 GAA GTC CCT CAA GGA CAG CTT GGA TTC TAC AAT GCT GTG GCC ATC CCC 2488
 Glu Val Pro Gln Gly Gln Leu Gly Phe Tyr Asn Ala Val Ala Ile Pro
 725 730 735
 TGC TAT ACC ACC CTG ACG CAG ATC CTC CCA CCC ACA GAG CCT CTG CTG 2536
 Cys Tyr Thr Thr Leu Thr Gln Ile Leu Pro Pro Thr Glu Pro Leu Leu
 740 745 750
 AAG GCC TGC AGG GAT AAC CTC AAT CAG TGG GAG AAG GTA ATT CGA GGG 2584
 Lys Ala Cys Arg Asp Asn Leu Asn Gln Trp Glu Lys Val Ile Arg Gly
 755 760 765
 GAA GAG ACA GCA ATG TGG ATT TCA GGC CCA GCA ACT AGC AAA AGC ACA 2632
 Glu Glu Thr Ala Met Trp Ile Ser Gly Pro Ala Thr Ser Lys Ser Thr
 770 775 780
 TCT GAG AAG CCG ACC AGG AAG GTC GAT GAC TGA 2665
 Ser Glu Lys Pro Thr Arg Lys Val Asp Asp
 785 790 794
 TCCTGAGGTG ATGTCTGCCT AGCAACTGAC TCAACCTGCT TCTGTGACTT CGTTCTTTT 2725
 ATTTTATTT TTTTAACGGG GTGAAACCT CTCTCAGAAG GTACCGTGC ATATCCATGT 2785
 GAAGCAGATG ACTCCCTGCG CACACCTGG ACCGTGAGCA ACCCGGGCTC CACCGTGTTC 2845
 AGACGTGGC TATTCCATGG CTCCGCTGA CCCCCGAATG CCATTTGCTA CCAGGCCAGA 2905
 ACTGCGCTGG CTGGAGGGGG CAGAGACGAC AGGAGGGGTT CTACCTGCA TCCTTCCATG 2965
 AGGGTGTGGT TCTGTGTTT ATCTCTAACA GAGATGCTAC TGCTTGGTGG CGTTGTITAG 3025
 AAATGGGACA CATGCCCTG TCGTGAAGTT TACATGTGAC CTCTTGTAG GTAACCTGAG 3085
 TTCGTAGCCT GGGACCCCTG TAATGAAGGT TACAGTCCAC AGGTGATAGA GAAATTC AAG 3145
 CTGTAAGTTA CAGGTGCACT ACAAGTGTGT TCATTCAGTT TACCTGGGG CATGGAGGTG 3205

AGTCAGCTCC ACGAGGAAGG AAGCATACCT CTGCCCTCAT CAAGGGGACA CAGGGTACAT 3265
 CCCAGGCATC AGAGAACTGC AGCTCACCTC AAACCATGTC AAAGAATTAA AACACACCCC 3325
 CATCCCTCA CTGTAGCCTT TGGCAACTTC GCCAAACCCT TCACACAAAG AAAATAAAAG 3385
 TAAGGCGTAT AAATTCCTC CAGCAAGCCT CGTGCCGAAT TC 3427.

【0146】

配列番号：16

配列の長さ：3080

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：ラット

配列の特徴

特徴を表す記号：CDS

存在位置：634..3000

配列：

GAATTCGGCA CGAGCTTCAG AGCACACGCA GCGCCCAAC TCGCCCTA TGTCAAGTGC 60
 ACGCGGCAC ACGGGTTGGA CACTCGCCA CGCACGACA CACACGCGG TGCACATACA 120
 TGCACACTCG TGCACACACA CTACTTCTAG GTGTGTGGGT CTAAGTTGC TTCGTGAG 180
 AGGCTGAGCT GAGATGGACC AGTCTTCATT GTGCCTAGA AAGCTCCTTA CAGCTTTCCT 240
 GAGGATCCCA GAAAGGAAGG CGGAGGGAG TAGCATCGCT CCTTCTTAGA GTTGTCTCCC 300
 CCTTTGCGA GATGCCAGC GCAGAACTC CAAGTACCG AAGCCCTGG AATACTGCTG 360
 CATGGAGCAT ATTCGAGCAT CTGGAGAGG TCCTGGACTT GGGCCACCG GGTGTGGCAA 420
 CTTGTTTGA GCAGCCCTGG ATGGAGCCG GATCCACCTT TCCCAGAGAC TTGTCCCTAC 480
 GGCCCACTT TGAATTTGTG AACTGGCAAT GAAGCAGAAA GGAGTTTGT ACTGGAGGAT 540
 ACTTTGGCGG GCTGCCTCCC GATCACAATT AAAGGTGGGA GCAAAGGCCG CGCTCTGCTG 600
 GCACTTCGAA ACCGCACAGA CTCTCGGGG CAG 633
 ATG AGC AAT GAC TCC CCA GAA GGT GCC GTG GGC TCC TGC AAC GCA ACA 681
 Met Ser Asn Asp Ser Pro Glu Gly Ala Val Gly Ser Cys Asn Ala Thr
 1 5 10 15
 GGT TTG ACG GAT GAA AAG GTG AAG GCC TAT CTT TCC CTC CAT CCC CAG 729
 Gly Leu Thr Asp Glu Lys Val Lys Ala Tyr Leu Ser Leu His Pro Gln
 20 25 30
 GTA TTA GAC GAG TTT GTT TCT GAA AGT GTT AGT GCG GAG ACT GTG GAG 777
 Val Leu Asp Glu Phe Val Ser Glu Ser Val Ser Ala Glu Thr Val Glu
 35 40 45
 AAG TGG CTG AAG AGG AAA AAC AAC AAA GCA GAA GAT GAA CCA TCT CCT 825
 Lys Trp Leu Lys Arg Lys Asn Asn Lys Ala Glu Asp Glu Pro Ser Pro
 50 55 60
 AAG GAA GTC AGC AGG TAC CAG GAC ACG AAC ATG CAG GGA GTC GTG TAC 873
 Lys Glu Val Ser Arg Tyr Gln Asp Thr Asn Met Gln Gly Val Val Tyr
 65 70 75 80
 GAG CTG AAC AGC TAC ATA GAG CAG CGC CTG GAC ACC GGC GGG GAC AAC 921
 Glu Leu Asn Ser Tyr Ile Glu Gln Arg Leu Asp Thr Gly Gly Asp Asn
 85 90 95
 CAC CTG CTC CTG TAC GAG CTA AGC AGT ATC ATC AGG ATA GCC ACA AAA 969
 His Leu Leu Leu Tyr Glu Leu Ser Ser Ile Ile Arg Ile Ala Thr Lys
 100 105 110
 GCC GAC GGA TTT GCA CTG TAC TTC CTT GGA GAG TGC AAT AAT AGT CTG 1017

Ala Asp Gly Phe Ala Leu Tyr Phe Leu Gly Glu Cys Asn Asn Ser Leu	
115 120 125	
TGT GTC TTC ACA CCA CCC GGA ATG AAG GAA GGT CAA CCC CGT CTC ATC	1065
Cys Val Phe Thr Pro Pro Gly Met Lys Glu Gly Gln Pro Arg Leu Ile	
130 135 140	
CCC GCA GGG CCC ATC ACC CAG GGC ACC ACC ATC TCT GCC TAT GTG GCC	1113
Pro Ala Gly Pro Ile Thr Gln Gly Thr Thr Ile Ser Ala Tyr Val Ala	
145 150 155 160	
AAG TCT AGG AAG ACC CTG CTG GTA GAG GAC ATC CTT GGG GAT GAG CGA	1161
Lys Ser Arg Lys Thr Leu Leu Val Glu Asp Ile Leu Gly Asp Glu Arg	
165 170 175	
TTT CCC AGA GGC ACT GGT CTG GAG TCA GGA ACC CGA ATC CAG TCT GTC	1209
Phe Pro Arg Gly Thr Gly Leu Glu Ser Gly Thr Arg Ile Gln Ser Val	
180 185 190	
CTT TGC TTG CCT ATT GTC ACT GCC ATT GGA GAC TTG ATT GGC ATC CTT	1257
Leu Cys Leu Pro Ile Val Thr Ala Ile Gly Asp Leu Ile Gly Ile Leu	
195 200 205	
GAA CTG TAC AGG CAC TGG GGC AAA GAG GCC TTC TGC CTC AGC CAT CAG	1305
Glu Leu Tyr Arg His Trp Gly Lys Glu Ala Phe Cys Leu Ser His Gln	
210 215 220	
GAG GTT GCA ACC GCC AAT CTC GCT TGG GCT TCC GTA GCA ATA CAC CAG	1353
Glu Val Ala Thr Ala Asn Leu Ala Trp Ala Ser Val Ala Ile His Gln	
225 230 235 240	
GTG CAG GTG TGC AGA GGT CTC GCC AAG CAG ACC GAA CTG AAT GAC TTC	1401
Val Gln Val Cys Arg Gly Leu Ala Lys Gln Thr Glu Leu Asn Asp Phe	
245 250 255	
CTG CTC GAT GTA TCA AAG ACA TAC TTT GAT AAC ATA GTC GCC ATA GAC	1449
Leu Leu Asp Val Ser Lys Thr Tyr Phe Asp Asn Ile Val Ala Ile Asp	
260 265 270	
TCT CTA CTT GAA CAC ATC ATG ATA TAT GCA AAA AAT CTA GTG AAC GCC	1497
Ser Leu Leu Glu His Ile Met Ile Tyr Ala Lys Asn Leu Val Asn Ala	
275 280 285	
GAC CGC TGC GCG CTC TTC CAG GTG GAC CAC AAG AAC AAG GAG CTG TAC	1545
Asp Arg Cys Ala Leu Phe Gln Val Asp His Lys Asn Lys Glu Leu Tyr	
290 295 300	
TCG GAC CTG TTT GAC ATT GGG GAG GAG AAG GAG GGG AAG CCC GTC TTC	1593
Ser Asp Leu Phe Asp Ile Gly Glu Glu Lys Glu Gly Lys Pro Val Phe	
305 310 315 320	
AAG AAG ACC AAG GAG ATC AGA TTT TCC ATT GAG AAA GGG ATT GCT GGT	1641
Lys Lys Thr Lys Glu Ile Arg Phe Ser Ile Glu Lys Gly Ile Ala Gly	
325 330 335	
CAA GTG GCA AGA ACG GGA GAA GTC CTG AAC ATT CCT GAT GCC TAC GCA	1689
Gln Val Ala Arg Thr Gly Glu Val Leu Asn Ile Pro Asp Ala Tyr Ala	
340 345 350	
GAC CCG CGC TTT AAC AGG GAG GTG GAC CTG TAC ACA GGC TAT ACC ACG	1737
Asp Pro Arg Phe Asn Arg Glu Val Asp Leu Tyr Thr Gly Tyr Thr Thr	
355 360 365	
CGG AAC ATT CTG TGT ATG CCC ATA GTG AGC CGC GGC AGC GTG ATC GGT	1785
Arg Asn Ile Leu Cys Met Pro Ile Val Ser Arg Gly Ser Val Ile Gly	
370 375 380	

GTG	GTG	CAA	ATG	GTT	AAC	AAG	ATC	AGC	GGC	AGC	GCC	TTC	TCC	AAG	ACG	1833
Val	Val	Gln	Met	Val	Asn	Lys	Ile	Ser	Gly	Ser	Ala	Phe	Ser	Lys	Thr	
385					390					395					400	
GAT	GAG	AAC	AAC	TTC	AAG	ATG	TTT	GCT	GTC	TTC	TGC	GCT	CTG	GCC	CTG	1881
Asp	Glu	Asn	Asn	Phe	Lys	Met	Phe	Ala	Val	Phe	Cys	Ala	Leu	Ala	Leu	
				405					410					415		
CAC	TGC	GCT	AAC	ATG	TAC	CAC	AGG	ATC	CGC	CAC	TCA	GAG	TGC	ATC	TAC	1929
His	Cys	Ala	Asn	Met	Tyr	His	Arg	Ile	Arg	His	Ser	Glu	Cys	Ile	Tyr	
				420					425					430		
AGG	GTT	ACC	ATG	GAG	AAG	CTG	TCT	TAC	CAC	AGC	ATC	TGC	ACC	TCT	GAG	1977
Arg	Val	Thr	Met	Glu	Lys	Leu	Ser	Tyr	His	Ser	Ile	Cys	Thr	Ser	Glu	
				435					440					445		
GAA	TGG	CAA	GGC	CTC	ATG	CAC	TTT	AAC	TTG	CCA	GCA	CGC	ATC	TGC	CGG	2025
Glu	Trp	Gln	Gly	Leu	Met	His	Phe	Asn	Leu	Pro	Ala	Arg	Ile	Cys	Arg	
				450					455					460		
GAC	ATC	GAG	CTA	TTC	CAC	TTT	GAC	ATT	GGT	CCT	TTC	GAG	AAC	ATG	TGG	2073
Asp	Ile	Glu	Leu	Phe	His	Phe	Asp	Ile	Gly	Pro	Phe	Glu	Asn	Met	Trp	
				465										480		
CCT	GGG	ATC	TTT	GTC	TAC	ATG	ATC	CAT	CGG	TCT	TGT	GGG	ACA	TCC	TGT	2121
Pro	Gly	Ile	Phe	Val	Tyr	Met	Ile	His	Arg	Ser	Cys	Gly	Thr	Ser	Cys	
				485										495		
TTT	GAA	CTT	GAA	AAA	TTG	TGC	CGT	TTT	ATC	ATG	TCT	GTG	AAG	AAG	AAC	2169
Phe	Glu	Leu	Glu	Lys	Leu	Cys	Arg	Phe	Ile	Met	Ser	Val	Lys	Lys	Asn	
				500					505					510		
TAT	AGG	CGG	GTT	CCT	TAC	CAC	AAC	TGG	AAG	CAT	GCA	GTC	ACG	GTG	GCG	2217
Tyr	Arg	Arg	Val	Pro	Tyr	His	Asn	Trp	Lys	His	Ala	Val	Thr	Val	Ala	
				515					520					525		
CAC	TGC	ATG	TAC	GCC	ATA	CTT	CAA	AAC	AAC	AAT	GGC	CTC	TTC	ACA	GAC	2265
His	Cys	Met	Tyr	Ala	Ile	Leu	Gln	Asn	Asn	Asn	Gly	Leu	Phe	Thr	Asp	
				530					535					540		
CTT	GAG	CGC	AAA	GGC	CTG	CTA	ATT	GCC	TGT	CTG	TGC	CAT	GAC	CTG	GAC	2313
Leu	Glu	Arg	Lys	Gly	Leu	Leu	Ile	Ala	Cys	Leu	Cys	His	Asp	Leu	Asp	
				545										560		
CAC	AGG	GGC	TTC	AGT	AAC	AGC	TAC	CTG	CAG	AAA	TTC	GAC	CAC	CCC	CTG	2361
His	Arg	Gly	Phe	Ser	Asn	Ser	Tyr	Leu	Gln	Lys	Phe	Asp	His	Pro	Leu	
				565										575		
GCT	GCG	TTG	TAC	TCC	ACC	TCC	ACC	ATG	GAG	CAA	CAC	CAC	TTC	TCC	CAG	2409
Ala	Ala	Leu	Tyr	Ser	Thr	Ser	Thr	Met	Glu	Gln	His	His	Phe	Ser	Gln	
				580					585					590		
ACG	GTG	TCC	ATC	CTC												

```

        645              650              655
GAC CGC GTC ATC GGC TTG ATG ATG ACT GCC TGC GAT CTT TGC TCT GTG   2649
Asp Arg Val Ile Gly Leu Met Met Thr Ala Cys Asp Leu Cys Ser Val

        660              665              670
ACG AAA CTA TGG CCA GTT ACA AAA TTG ACA GCA AAT GAT ATA TAT GCA   2697
Thr Lys Leu Trp Pro Val Thr Lys Leu Thr Ala Asn Asp Ile Tyr Ala

        675              680              685
GAG TTC TGG GCT GAG GGG GAT GAG ATG AAG AAG TTG GGG ATA CAG CCC   2745
Glu Phe Trp Ala Glu Gly Asp Glu Met Lys Lys Leu Gly Ile Gln Pro

        690              695              700
ATC CCT ATG ATG GAC AGA GAC AAG CGA GAT GAA GTC CCT CAA GGA CAG   2793
Ile Pro Met Met Asp Arg Asp Lys Arg Asp Glu Val Pro Gln Gly Gln

        705              710              715              720
CTT GGA TTC TAC AAT GCT GTG GCC ATC CCC TGC TAT ACC ACC CTG ACG   2841
Leu Gly Phe Tyr Asn Ala Val Ala Ile Pro Cys Tyr Thr Thr Leu Thr

        725              730              735
CAG ATC CTC CCA CCC ACA GAG CCT CTG CTG AAG GCC TGC AGG GAT AAC   2889
Gln Ile Leu Pro Pro Thr Glu Pro Leu Leu Lys Ala Cys Arg Asp Asn

        740              745              750
CTC AAT CAG TGG GAG AAG GTA ATT CGA GGG GAA GAG ACA GCA ATG TGG   2937
Leu Asn Gln Trp Glu Lys Val Ile Arg Gly Glu Glu Thr Ala Met Trp

        755              760              765
ATT TCA GGC CCA GCA ACT AGC AAA AGC ACA TCT GAG AAG CCG ACC AGG   2985
Ile Ser Gly Pro Ala Thr Ser Lys Ser Thr Ser Glu Lys Pro Thr Arg

        770              775              780
AAG GTC GAT GAC TGA                                           3000
Lys Val Asp Asp

        785              788
TCCTGAGGTG ATGTCTGCCT AGCAACTGAC TCAACCTGCT TCTGTGACTT CGTTCTTTT 3060
ATTTTATTT TTTTAACGGG                                           3080.

```

【0147】配列番号：17

配列の長さ：19

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成プライマー）

配列：

GGGCTCTCC AGGTGGACC 19

。

【0148】配列番号：18

配列の長さ：18

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成プライマー）

配列：

CATCTTGAAG TTGTCTC 18

。

【図面の簡単な説明】

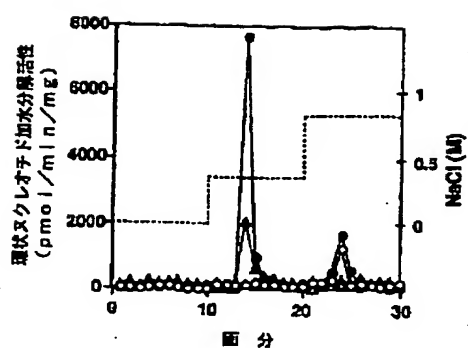
【図1】 組換えヒトPDE10を発現させたCOS細胞の細胞抽出液をMonoQセファロースカラムクロマトグラフィーで分画した結果（各画分のcAMP又はcGMP加水分解活性）を示した図。

【図2】 ヒトPDE10によるcAMP又はcGMP加水分解反応の速度論的解析結果（Lineweaver-Burk plot）を示した図。

【図3】 ヒトPDE10のcAMP分解活性に対するcGMPの影響を調べた結果を示した図。cGMP非添加の場合のcAMP分解活性を100%とし、活性の相対値（%）を示した。

【図4】 ヒトの各組織におけるPDE10遺伝子の発現（ドットプロットの結果）を示した図。

【図1】



—○—, —○—: cAMP加水分解活性
 —△—, —△—: cGMP加水分解活性
 —●—, —△—: PSLV-PDE10をトランスフェクトした細胞の抽出液
 —○—, —△—: PSLVのみをトランスフェクトした細胞の抽出液

図1 ヒトPDE10を発現させたCOS細胞の抽出液の分画

【図3】

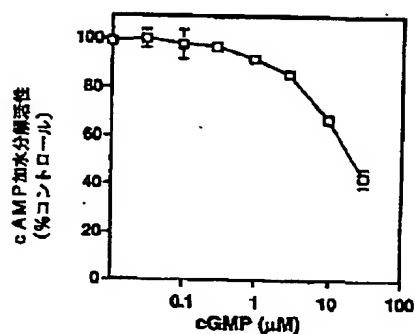
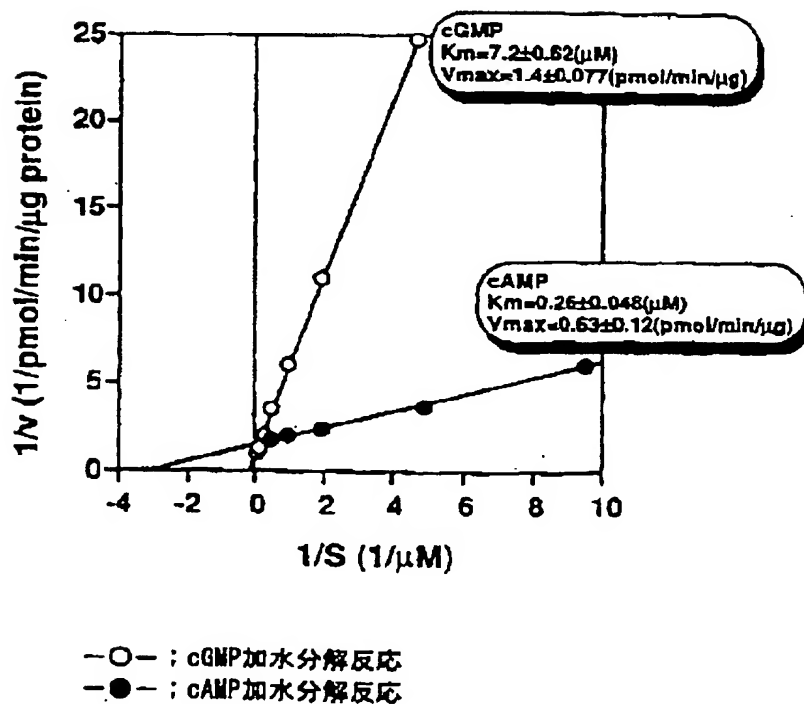


図3 ヒトPDE10のcAMP分解活性に対するcGMPの影響

【図2】



—○—: cGMP加水分解反応
 —●—: cAMP加水分解反応

図2 ヒトPDE10による酵素反応の速度論的解析
 (Lineweaver-Burk plot)

【図4】

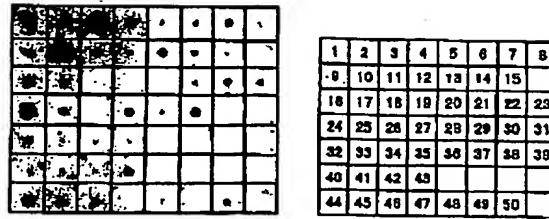


図4 ヒトの各組織におけるPDE10の発現

1: 全脳、2: 小脳扁桃、3: 尾状核、4: 小脳、5: 大脳皮質、
 6: 前頭葉、7: 高次皮層、8: 基底、
 9: 後頭葉、10: 果核、11: 黒質、12: 側頭葉、13: 視床、
 14: 視床下核、15: 腎臓、
 16: 心臓、17: 大動脈、18: 骨格筋、19: 結腸、20: 膀胱、21: 子宮、
 22: 前立腺、23: 胃、
 24: 精巣、25: 卵巣、26: 脾臓、27: 下垂体腺、28: 副腎、29: 甲状腺、
 30: 唾液腺、31: 乳腺、
 32: 腎臓、33: 肝臓、34: 小腸、35: 脾臓、36: 膵臓、37: 末梢白血球、
 38: リンパ節、39: 骨髄、
 40: 虫歯、41: 肺、42: 気管、43: 胎盤、
 44: 胎児脳、45: 胎児心臓、46: 胎児腎臓、47: 胎児肝臓、
 48: 胎児脾臓、49: 胎児膵臓、50: 胎児肺

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト (参考)
C 1 2 N 5/10		C 1 2 N 9/16	C
9/16		C 1 2 P 21/08	
15/02		C 1 2 Q 1/44	
C 1 2 P 21/08		1/68	A
C 1 2 Q 1/44		G 0 1 N 33/15	Z
1/68		33/50	Z
G 0 1 N 33/15		33/573	A
33/50		C 1 2 N 5/00	B
33/573			A
/(C 1 2 N 9/16		15/00	C
C 1 2 R 1:91)			

(72)発明者 道端 英雄
 埼玉県戸田市川岸2丁目3番8号田辺製薬
 戸田寮

(72)発明者 湯浅 恵造
 埼玉県戸田市川岸2丁目3番8号田辺製薬
 戸田寮